

Curso temporal das alterações na variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial após infarto do miocárdio em ratos

Rafaela Aires

Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas

Mestrado em Ciências Fisiológicas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, Agosto de 2015.

Curso temporal das alterações na variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial após infarto do miocárdio em ratos

Rafaela Aires

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Prof. Dr. José Geral Mill – Orientador, UFES

Prof. Dr. Eduardo Miranda Dantas – Co-Orientador, UNIVASF

Prof. Dr. Marcelo Perim Baldo – UFES

Coordenadora do PPGCF Prof^a. Dr^a. Ivanita Stefanon

Aires, Rafaela 1990

Curso Temporal das Alterações da Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial após Infarto do Miocárdio em Ratos [Vitória] 2015
72 p., 29,7cm (UFES, M. SC., Ciências Fisiológicas, 2015)

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Mill

Co-Orientador: Prof. Dr. Eduardo Miranda Dantas

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo.

1. Infarto do Miocárdio 2. Variabilidade da Frequência Cardíaca 3. Variabilidade da Pressão Arterial 4. Sistema Nervoso Autônomo 5. Análise Espectral da Potência

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser,
mas graças a Deus, não sou o que era antes”.
(Marthin Luther King)

AGRADECIMENTOS

A Deus eu dedico minha maior gratidão. Agradeço a Ele que me conduziu para esse caminho e me proveu o conhecimento e a sabedoria. Grandes coisas fez o Senhor por mim.

Aos familiares que me apoiaram, principalmente a minha mãe, que confiou em mim e me encorajou nos momentos de desânimo. Obrigada por suas orações e preocupação. À minha avó Aidê (*in memoriam*) que orava por mim e torcia pela minha felicidade. A alegria que senti na minha formatura, que como ela disse: “uma alegria inexplicável”, hoje com certeza também estaria muito feliz por mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Geraldo Mill, por ter me aceitado como aluna. Obrigada pelo ensino que me foi dado durante esses dois anos e pela disponibilidade em tirar minhas dúvidas. Foi uma grande experiência trabalhar no seu laboratório. Você se tornou uma inspiração para mim e com certeza é para muitos.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Eduardo Miranda Dantas, que mesmo nos comunicando somente via e-mail sempre conseguiu de maneira bem clara tirar todas as minhas dúvidas sobre variabilidade. Agradeço pela paciência em responder meus e-mails e por me ensinar a metodologia desenvolvida nesse trabalho. Apreendi muito com você.

Aos membros do Laboratório de Fisiopatologia Cardiovascular: Enildo, Marcelo, Ludimila, Rebeca, Carmen, Layla, Amilcar, Stephanie, Cristina, Andrea, Gustavo, Divanei, obrigada pelo bom convívio e momentos de risadas. Enildo, obrigada por ter contribuído com grande parte desse trabalho infartando os ratinhos para mim e me ensinando as técnicas utilizadas no laboratório. Você é muito importante e especial para a pós-graduação. Agradeço ao Prof. Dr. Marcelo, por sempre me salvar dos meus problemas com os programas do computador rs e claro, pelo conhecimento transmitido a mim e por nunca negar me ajudar. Te desejo uma carreira de muitas conquistas.

Aos professores da graduação que incentivaram minha entrada no mestrado. Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira, obrigada pela oportunidade de iniciar no meio científico, o que aprendi no seu laboratório foi muito importante e sempre levarei comigo. Dr^a. Jonaína Fiorim sou grata a você, pois seu incentivo foi muito importante naquele momento da graduação em que eu estava em dúvida sobre o que fazer e se conseguiria passar na prova de mestrado. Sua ajuda e palavras foram essenciais e eu não poderia deixar de agradecer. Prof^a. Dr^a. Juliana Hott, com suas aulas eu descobri que amo Anatomia e esse foi um dos motivos que me estimulou a fazer o mestrado. Se Deus quiser, serei uma professora de Anatomia e nas suas aulas me inspirarei.

Aos meus amigos que torceram por mim e pelos momentos de alegria. Especialmente, à minha amiga Juliana Teixeira, agradeço por sempre me ouvir desabafar, chorar, reclamar (poucas vezes rs) e por ficar feliz por minhas conquistas. Obrigada pelas palavras de apoio e encorajamento, que foram essências durante os dois anos de mestrado.

À coordenadora Prof^a. Dr^a Ivanita Stefanon e aos professores da Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, obrigada pela contribuição à minha formação acadêmica e pelo ensino ministrado.

Aos colegas de outros laboratórios, Laís, Samya, Carol, Brenna, Brunneli da Rós, Vanessa Rocha e outros, obrigada pelo bom convívio e auxílio quando precisei.

Aos funcionários do Biotério do Centro de Ciências da Saúde agradeço pelo cuidado aos animais e pela disponibilidade.

À CAPES pelo apoio financeiro concedido para a realização desse trabalho

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Controle autonômico da frequência cardíaca	15
1.2 Controle autonômico da pressão arterial	20
1.3 Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial	23
1.4 Infarto do miocárdio	28
1.4.1 Epidemiologia	28
1.4.2 Alterações autonômicas no infarto do miocárdio	30
2 OBJETIVOS	34
2.1 Objetivo geral	34
2.2 Objetivo específico	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 Animais experimentais	35
3.2 Grupos Experimentais	35
3.3 Produção do Infarto do Miocárdio	36
3.4 Canulação arterial	37
3.5 Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial	37
3.6 Análise Morfométrica Cardíaca	39
3.7 Análise Estatística	40
4 RESULTADOS	41
5 DISCUSSÃO	50
6 CONCLUSÃO	59
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Anatomia da inervação simpática e parassimpática no aparelho cardiovascular.....	16
Figura 2: Representação esquemática dos mecanismos regulatórios da pressão arterial (PA).....	21
Figura 3: Regulação autonômica (extrínseca) da frequência cardíaca. SNC: sistema nervoso central; SNA: sistema nervoso autônomo.....	23
Figura 4: Registro típico da VFC de um indivíduo saudável e sua representação esquemática da análise espectral.....	25
Figura 5: Dez principais causas de mortes no Brasil em 2012.....	28
Figura 6: Mortalidade e estimativas globais de saúde. Dez principais causas de morte em 2012 (por sexo).....	29
Figura 7: Ativação simpática após o infarto do miocárdio.....	31
Figura 8: Diagrama representativo dos grupos experimentais e o respectivo número (n) de animais utilizados.....	35
Figura 9: Frequência cardíaca (bpm) avaliada ao longo do tempo nos grupos experimentais.....	43
Figura 10: Componente espectral HF (n.u.) da VFC ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais.....	45
Figura 11: Componente espectral LF (n.u.) da VFC ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais.....	46
Figura 12: Componente espectral LF (n.u.) da VPA ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais.....	48
Figura 13: Componente espectral HF (n.u.) da VPA ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais.....	49
Tabela 1: Pesos corporal e ventricular e pressão arterial média.....	42
Tabela 2: Análise temporal e espectral da variabilidade da frequência cardíaca.....	44
Tabela 3: Análise temporal e espectral da variabilidade da pressão arterial.....	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ACh – Acetilcolina

bpm – batimentos por minuto

DC – Débito Cardíaco

DCV – Doenças Cardiovasculares

DEP – Densidade Espectral da Potência

DS – Débito Sistólico

EPM – Erro Padrão da Média

FC – Frequência Cardíaca

IM – Infarto do Miocárdio

IP – Intervalo de Pulso

iRR – Intervalo RR

LF – Componente espectral de baixa frequência

LF/HF – Relação entre o componente de baixa frequência e alta frequência

HF – Componente espectral de alta frequência

NE – Norepinefrina

NSA – Nodo Sinatrial

n.u. – unidades normalizadas

CVLM – Núcleo Ventrolateral Caudal do Bulbo

OS – Operado SHAM

PA – Pressão Arterial

PAM – Pressão Arterial Média

RPT – Resistência Periférica Total

RVLM – Núcleo Ventrolateral Rostral do Bulbo

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Parassimpático

SNS – Sistema Nervoso Simpático

VD – Ventrículo Direito

VE – Ventrículo Esquerdo

VFC – Variabilidade da Frequência Cardíaca

VLf – Componente espectral de frequência muito baixa

VPA – Variabilidade da Pressão Arterial

VS – Volume Sistólico

RESUMO

Introdução: O infarto do miocárdio (IM) cursa agudamente com redução do desempenho mecânico do coração e consequente queda do débito cardíaco (DC) e pressão arterial (PA). Adaptações autonômicas ocorrem visando manter níveis pressóricos adequados para a perfusão tecidual. Os ajustes autonômicos podem variar ao longo do tempo. **Objetivo:** Determinar o curso temporal do balanço autonômico nas fases aguda (1-3 dias), sub-aguda (7 dias) e crônica (21 dias) do IM em ratos. **Métodos:** O balanço autonômico foi avaliado pela análise temporal e espectral da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e da pressão arterial (VPA) obtidos a partir do registro da PA pulsátil (30 min) nos animais acordados após IM ou operação simulada (OS). Os dados são média \pm EPM. **Resultados:** A frequência cardíaca (FC) manteve-se inalterada no grupo OS e foi maior ($P < 0,01$) em ratos de 1 e 3 dias após o IM (OS-1= 356 ± 9.7 bpm vs IM-1= 438 ± 13 bpm; OS-3= 346 ± 17 ; IM-3= 411 ± 8.4) com progressiva recuperação dos níveis basais (OS-7= 345 ± 4.2 bpm vs IM-7= 382 ± 14 bpm; OS-21= 339 ± 10 bpm vs IM-21= 375 ± 17 bpm) ($P = 0.001$ no teste F de interação, ANOVA-duas vias). IM determinada redução global da VFC, em ambos os componentes HF e LF da análise espectral. O componente HF (n.u.) da VFC foi significativamente menor nos ratos IM 1 ($P < 0.01$) e IM-3 dias ($P < 0.05$) comparado com os grupos controles (OS-1= 68 ± 4 vs IM-1= 35.3 ± 4.3 ; OS-3= 71 ± 5.8 vs IM-3= 45.2 ± 3.8 ; OS-7= 69.2 ± 4.8 vs IM-7= 56 ± 5.8 ; OS-21= 73 ± 4 vs IM-21= 66 ± 6.6), mostrando recuperação parcial ao longo do tempo ($P = 0.001$ no teste F de interação; ANOVA-duas vias). O IM também atenuou a VPA, visto na redução significativa do componente LF em valores absolutos e normalizados em todo período estudado (OS-1= 39.3 ± 7 vs IM-1= 13 ± 3.5 ; OS-3= 55 ± 4.5 vs IM-3= 35 ± 4.7 ; OS-7= 46.8 ± 4.5 vs IM-7= 25 ± 2.8 ; OS-21= 45.7 ± 5 vs IM-21= 21.4 ± 2.8 ; $P = 0.001$ no teste F de interação; ANOVA-duas vias). O componente HF da VPA não foi afetado pela ligadura coronariana. **Conclusão:** Os dados sugerem que a taquicardia inicial na fase aguda MI é devida principalmente à remoção da modulação parassimpático para o coração. A recuperação da FC de repouso é temporalmente associada à recuperação do balanço autonômico com predominância parassimpática.

Palavras chave: Infarto do miocárdio, variabilidade da frequência cardíaca, variabilidade da pressão arterial, sistema nervoso autônomo, análise espectral da potência.

ABSTRACT

Introduction: Myocardial infarction (MI) acutely impairs the cardiac pump and reduces the cardiac output (CO). Blood pressure (BP) control depends on continuous adjustments of the autonomic balance directed to the heart and blood vessels. Such adjustments change after MI and may vary over time

Objective: To determine the time course of the autonomic balance adjustments in the acute (1-3 days), sub-acute (7 days) and chronic (21 days) phases of MI in rats.

Methods: The autonomic balance was assessed by temporal and spectral analysis of the blood pressure (BPV) and heart rate (HRV) variability. Pulsatile BP recordings (30 min) were obtained in the awake and unrestrained animals with MI or sham operated (SO). Data are means \pm SE.

Results: Heart rate remained unchanged in the SO group over time and it was higher ($P < 0.01$) in MI rats at 1 and 3 days after MI (SO-1 = 356 ± 9.7 vs MI-1 = 438 ± 13 bpm; SO-3 = 346 ± 17 ; MI-3 = 411 ± 8.4 bpm) with tendency to recover normal values thereafter (SO-7 = 345 ± 4.2 vs MI-7 = 382 ± 14 bpm; SO-21 = 339 ± 10 vs MI-21 = 375 ± 17 bpm) ($P < 0.001$ for the interaction F-test, two-way ANOVA). MI was followed by an overall reduction of HRV in both HF and LF bands of the spectral analysis. The power of HF (n.u.) was significantly lower in MI-1 ($P < 0.01$) and MI-3 days rats ($P < 0.05$) compared with their time-control groups (SO-1 = 68 ± 4 vs MI-1 = 35.3 ± 4.3 ; SO-3 = 71 ± 5.8 vs MI-3 = 45.2 ± 3.8) without difference thereafter (SO-7 = 69.2 ± 4.8 vs MI-7 = 56 ± 5.8 ; SO-21 = 73 ± 4 vs MI-21 = 66 ± 6.6), ($P = 0.001$ for the interaction F-test, two-way ANOVA). Along the observation period, MI rats also showed reduced BPV, mostly dependent on significant reduction of the LF band in absolute and normalized units (SO-1 = 39.3 ± 7 vs MI-1 = 13 ± 3.5 ; SO-3 = 55 ± 4.5 vs MI-3 = 35 ± 4.7 ; SO-7 = 46.8 ± 4.5 vs MI-7 = 25 ± 2.8 ; SO-21 = 45.7 ± 5 vs MI-21 = 21.4 ± 2.8 ; $P = 0.001$ for the interaction F-test; two-way ANOVA). The HF component of BPV was unaffected after MI

Conclusion: Our data suggest that the initial tachycardia in the acute phase MI seems to be mainly due to removal of the parasympathetic modulation on heart beats. Recovery of basal heart rate values is timely associated to the recovery of the HF component of HRV.

Keywords: myocardial infarction, heart rate variability, blood pressure variability, autonomic nervous system, power spectral analysis

INTRODUÇÃO

O infarto do miocárdio (IM) é o principal desfecho que contribui para a elevada mortalidade das doenças cardiovasculares (DCV). A morte que ocorre agudamente após IM decorre, em grande parte, às arritmias ventriculares tendo em vista a instabilidade elétrica que se instala nas regiões sujeitas à hipóxia, principalmente aquelas localizadas na região peri-infarto (Santos et al., 1995). Após a agressão isquêmica ao coração, já nas primeiras horas, o organismo ativa mecanismos compensatórios neurohumorais visando manter a homeostase cardiovascular no indivíduo infartado. Na fase aguda do IM ocorre ativação simpática e retirada vagal que parecem ser adaptações para compensar a redução do desempenho mecânico cardíaco visando manter o débito cardíaco (DC) e a pressão arterial (PA) em níveis adequados (Mann e Bristow, 2005). O desequilíbrio autonômico, no entanto, leva a várias consequências deletérias, incluindo a facilitação de taquiarritmias e aumento do consumo de oxigênio no miocárdio. Portanto, o re-equilíbrio autonômico pós-infarto ao longo do tempo representaria um mecanismo adaptativo favorável no processo de evolução do evento isquêmico agudo (Mostarda et al., 2014; Patel et al., 2011; Farrell et al., 1992; Jennings et al., 1990; Zipes, 1990; McAlpine et al., 1988).

Os estudos de variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e, mais raramente, de variabilidade da pressão arterial (VPA) têm sido amplamente utilizados para avaliar doenças que acometem a modulação simpato-vagal. A relativa facilidade de obtenção destes dados tem mostrado ser uma estratégia de grande valor na investigação dos desequilíbrios do sistema nervoso autônomo (SNA), como no IM e na insuficiência cardíaca, pois são elementos de prognóstico de evolução da doença e do risco de morte súbita. (Task Force, 1996; Valentini et al., 2009).

Se os distúrbios autonômicos que acometem o indivíduo no curso do IM forem detectados precocemente, rápidas e precisas intervenções podem ser tomadas para que se reduzam os índices de morbidade e mortalidade, principalmente nas primeiras fases da doença. Além disso, a melhor manipulação dos doentes tende a reduzir os custos do tratamento por evitar

complicações que exigem internação hospitalar. Apesar de se conhecer que o desbalanceamento autonômico após o evento agudo de IM tende a reverter com o tempo, há poucos estudos que mostram a evolução temporal de tais processos. O levantamento deste fenômeno em pacientes é mais difícil tendo em vista não só as limitações de estudos em humanos, mas principalmente, pela necessidade de se usar vários medicamentos após IM, medicamentos estes que interferem no balanço autonômico. Desta forma, a compreensão dos eventos que evidenciem o curso temporal da regulação autonômica pós-infarto deve ser feito dentro de condições experimentais e na ausência de drogas que interfiram neste processo.

1.1 Controle autonômico da frequência cardíaca

O miocárdio de trabalho, desprovido de automatismo, exerce sua função de bomba devido à sua ativação pelo grupo de células musculares especializadas que exibem automatismo. O nódulo sinoatrial (NSA), nódulo atrioventricular (NAV) e o sistema de His-Purkinje são constituídos por células que exibem tais características sendo capazes de iniciar espontaneamente um potencial de ação sem ativação de qualquer estímulo neural ou hormonal (Gordan et al., 2015).

As células do NSA estão situadas em torno da desembocadura da veia cava superior no átrio direito sendo responsáveis pela gênese da atividade elétrica espontânea cardíaca, atuando assim, como o marcapasso cardíaco principal. A quantidade de batimentos cardíacos por minuto, denominada frequência cardíaca (FC) é dada pela frequência de disparo espontânea de potenciais de ação pelas células do NSA. No homem o ritmo de disparo espontâneo é de cerca de 94 batimentos por minuto (bpm), a chamada FC intrínseca, ou seja, ausente de influências hormonais e neurais. O potencial de ação cardíaco gerado no NSA se propaga para o miocárdio atrial desencadeia a contração das câmaras atriais direita e esquerda e assim é propagado para o NAV. Este, por sua vez, propaga a atividade elétrica para o feixe de His e para o sistema periférico de ramificações que se dissipa para todo o miocárdio ventricular, desencadeando a contração (Mangoni e Nargeot, 2008; Shaffer et al., 2014).

Apesar da propriedade intrínseca do coração em gerar potencial elétrico para a ativar suas células, é através do SNA que ocorre a principal regulação da atividade cardíaca por meio dos sistemas nervoso simpático (SNS) e parassimpático (SNP), os quais modulam a descarga espontânea das células do marcapasso. Sendo assim, a FC apresenta irregularidades temporais que refletem a flutuação da modulação do SNA sobre o SNA. Em condições normais essa regulação se faz para adaptar o trabalho cardíaco, de forma rápida e intensa, às necessidades metabólicas de todo organismo (Stee, 1978; Malliani et. al., 1991; Valentini, et al., 2009).

O SNS aumenta a automaticidade das células do marcapasso, já o SNP reduz a atividade. Ao inibir o SNS, utilizando antagonista beta-adrenérgico, observa-se redução da FC. Os antagonistas colinérgicos muscarínicos, por sua vez, bloqueiam a atividade parassimpática e elevam a FC de repouso. A frequência cardíaca intrínseca geralmente é investigada através deste processo de duplo bloqueio (Berne e Levy, 2006).

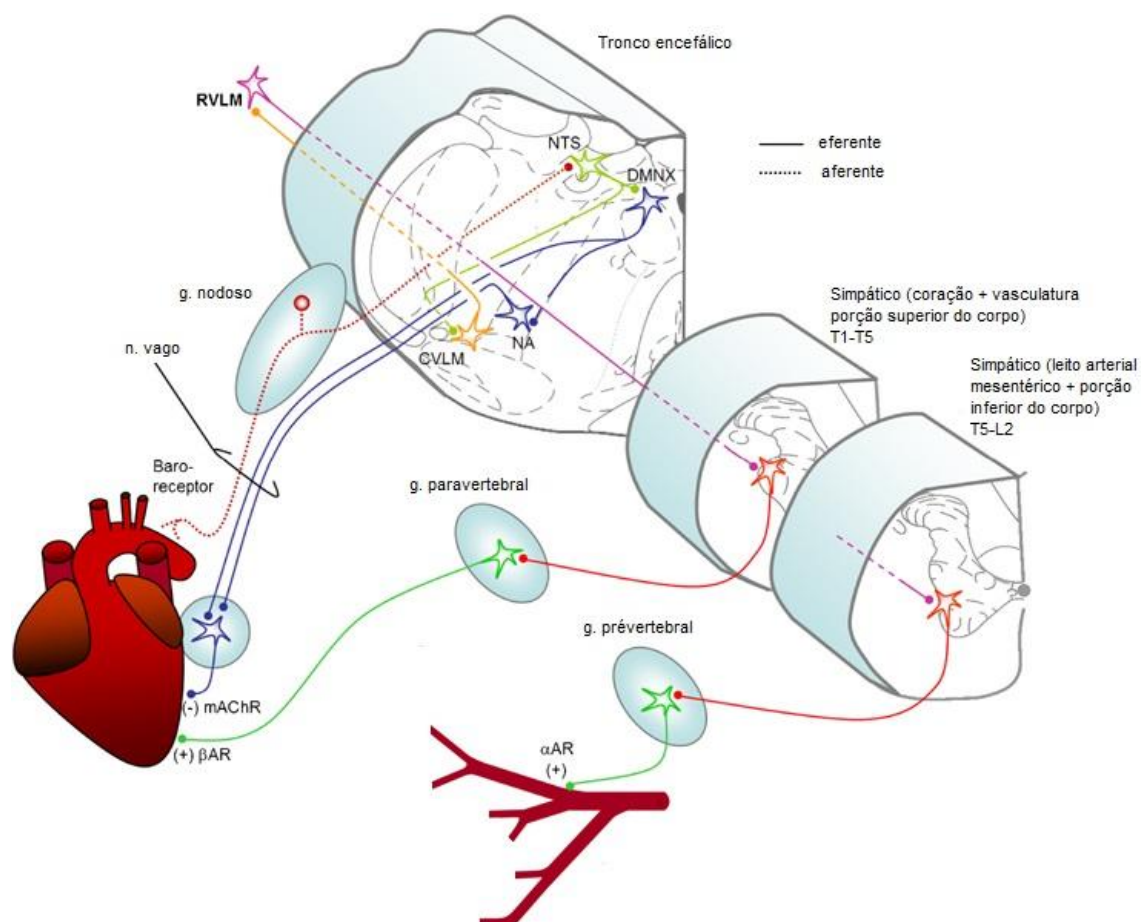


Figura 1: Anatomia da inervação simpática e parassimpática no aparelho cardiovascular (Adaptado de Inskip et al., 2009).

As eferências simpáticas (neurônios medulares) e vagais (núcleo motor dorsal do vago) para o NSA sofrem modulação de fibras nervosas provenientes de núcleos osciladores centrais, como os centros reguladores da vasomotricidade e da respiração, e de aferências periféricas com informações barorreflexa, quimiorreceptora, dos movimentos respiratórios, dentre outros (Task Force, 1996).

O SNS apresenta várias funções que aceleram a atividade cardíaca, como aumento da FC e força contrátil e no sistema vascular aumenta a resistência periférica total pela vasoconstrição em artérias e arteríolas e redução da capacitância venosa. Já o SNP reduz o trabalho cardíaco por principalmente diminuir a frequência de batimentos e a pressão arterial média (Triposkiadis et al., 2009).

A figura 1 ilustra a anatomia da inervação simpática e parassimpática dirigida para estruturas do aparelho cardiovascular. As fibras pré-ganglionares do SNS são originadas na região intermédio-lateral da porção tóraco-lombar (T1-L2) da medula espinhal. Fibras pré-ganglionares de T1 a T5 se projetam para o coração. Seus ramos curtos saem da coluna espinhal pelos ramos comunicantes brancos e se dirigem para as cadeias paravertebrais e pré-vertebrais onde fazem conexão com os gânglios simpáticos. Em seguida, os axônios dos neurônios pós-ganglionares fazem sinapse com células do coração liberando como neurotransmissor a norepinefrina (NE). Informações transmitidas aos neurônios pré-ganglionares simpáticos se originam na região bulbar, em dois núcleos: o núcleo ventrolateral caudal do bulbo (CVLM), o qual é constituído de neurônios inibitórios, e o núcleo ventrolateral rostral do bulbo (RVLM), uma área de neurônios pré-motores simpatoexcitatórios (Elghosi e Julien, 2007; Inskip et al., 2009) (Figura 1). A NE se liga ao receptor β 1-adrenérgico acoplado à proteína G estimulante (Gs) presente no NSA, NAV, átrios e ventrículos. Essa ligação ativa a enzima adenilato ciclase (AC) que converte trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). O AMPc irá ativar a proteína quinase dependente de AMPc (PKA), a qual fosforila proteínas de específicas de canais iônicos (Bers, 2002).

A NE aumenta a taxa de disparo de potenciais de ação do NSA causando a elevação da FC (cronotropismo positivo) em decorrência do maior influxo das correntes de Na (I_f) e Ca (I_{CaL}), aumentando a inclinação da fase de despolarização diastólica lenta tornando-a mais rápida e assim atingindo o limiar de disparo em menor tempo. Além disso, a fase de repolarização é acelerada pelo aumento da corrente de K (I_{ks}), gerando mais rapidamente um novo potencial de ação (DiFrancesco, 1993). Portanto, a atividade simpática é ativada em situações em que há necessidade de maior demanda do trabalho cardíaco, como na prática de exercícios físicos, momentos de luta e fuga ou em condições patológicas.

O SNP origina-se no bulbo, mais precisamente nos núcleos motor dorsal do vago (NMDV) e ambíguo (NA). Desses, emergem as fibras pré-ganglionares parassimpáticas colinérgicas do nervo vago (X par nervo craniano) e seguem em direção ao coração onde realizam conexão com os gânglios pós

ganglionares que também liberam acetilcolina (Ach) como neurotransmissor (Carnevali e Sgoifo, 2014; Gourine et al., 2014) (Figura 1).

A Ach, ao contrário da NE, atua no NSA reduzindo a frequência de disparo por diminuir a velocidade da despolarização diastólica lenta, reduzindo a FC, ou seja, causando efeito cronotrópico negativo. Além disso, retarda a velocidade de condução do impulso elétrico pelo NAV e reduz a força de contração (inotropismo negativo), notadamente nos átrios onde a densidade de terminais vagais é maior que nos ventrículos. A ação da Ach se dá pela ligação aos receptores muscarínicos do tipo 2 (M2) acoplados à proteína G inibitória (Gi), a qual inibe a AC e reduz os níveis de AMPc e a fosforilação das proteínas pela PKA obtendo uma resposta contrária ao estímulo simpático, favorecendo aumento da corrente I_K e redução da I_f (Gordan et al., 2015; Shaffer et al., 2014).

No estado de repouso prevalece o tônus parassimpático sobre a FC havendo controle do ritmo sinusal batimento a batimento, devido à curta duração do efeito da Ach, pois esta é rapidamente hidrolisada pela acetilcolinesterase. Assim esse neurotransmissor é continuamente produzido, liberado e hidrolisado. Ao contrário da atividade parassimpática, a resposta simpática é mais lenta, pois o tempo de decaimento dos níveis de NE nos terminais adrenérgicos e seus efeitos celulares são mais prolongados. Além disso, o sistema de ativação da atividade simpática utiliza a via de segundo mensageiro AMPc, que também é mais lenta em relação à via colinérgica via receptor M2 (Elghozi e Julien 2007; Kobayashi et al., 2013; Berne e Levy, 2006; Malpas, 2010). Experimentalmente em cães, quando aplicamos uma descarga simpática de 0-4 Hz na ausência de atividade vagal, observa-se aumento da FC de cerca de 80 bpm. Ao aplicarmos novamente esse estímulo simpático juntamente com uma descarga parassimpática a 8 Hz iremos obter um efeito simpático mínimo sobre a FC. Portanto, pode-se dizer que a atividade parassimpática domina o controle da FC no NSA, predominando sobre os efeitos do estímulo simpático (Berne e Levy, 2006).

As oscilações de curto prazo dos batimentos cardíacos são principalmente determinadas por influências do ritmo respiratório e sistema

barorreflexo. Receptores de pressão localizados nos seios carotídeos e arco aórtico são sensíveis ao estiramento da parede dessas artérias. A cada sístole cardíaca impulsos elétricos são enviados através de fibras aferentes dos nervos aórticos e carotídeos, que trafegam através dos nervos glossofaríngeo e vago, ao núcleo do trato solitário no sistema nervoso central a fim de garantir o controle pressórico. Em condições de aumento da PA, os barorreceptores são estirados e a descarga de impulsos elétricos que trafega até o NTS aumenta. Aferências que trafegam ao NTS irão excitar neurônios inibitórios do CVLM os quais, por sua vez, inibirão neurônios simpatoexcitatórios no RVLM. Assim, com a supressão da atividade do SNS a FC irá diminuir pela predominância da modulação vagal. Em situações de estresse e com a elevação súbita da pressão arterial, o barorreflexo atua como um cardioprotetor pela redução da descarga simpática, protegendo o coração, por exemplo de possíveis arritmias (Kirkman e Sawdon, 2004; Swenne, 2013). Portanto, o barorreflexo é um modulador do sistema autonômico, sendo um importante determinante da FC.

Aferências originadas a partir de receptores de estiramento pulmonares ativados na inspiração e do centro respiratório também modulam fortemente a atividade parassimpática cardíaca. Essas aferências se dirigem ao NTS e irão ativar neurônios GABAérgicos, os quais inibem as fibras pré-ganglionares parassimpáticas no NA durante a inspiração. Essa a origem da arritmia sinusal respiratória (ASR). Durante a inspiração a FC aumenta (supressão vagal) e na fase da expiração a FC diminui (aumento vagal) (Billman et al., 2015; Carnevali e Sgoifo, 2014; Shaffer et al., 2014).

Além disso, fibras sensoriais que se originam no coração e migram do gânglio nodoso e gânglios da raiz dorsal em direção ao sistema nervoso central (SNC), podem desencadear reflexos que determinam mudanças na FC por estimulação simpática ou parassimpática (Gourine et al., 2014).

1.2 Controle autonômico da pressão arterial

A PA dita normal está em torno de 120 mmHg de pressão arterial sistólica e 80 mmHg para pressão arterial diastólica. Porém, a PA também é regulada batimento a batimento pelas vias eferentes do SNA que visam

garantir, a curto prazo, as adaptações necessárias, elevando ou reduzindo os níveis pressóricos, para que a força propulsora de sangue, a pressão arterial média, esteja em níveis adequados para manter a perfusão tecidual. Portanto a PA apresenta uma característica dinâmica (Ashton, 2007).

O SNS possui uma vasta distribuição de fibras eferentes na vasculatura periférica, notadamente nas arteríolas, sendo responsável por manter a tonicidade dos vasos. Essa ação se faz especificamente através da ligação da NE aos receptores α 1-adrenérgico promovendo o aumento da resistência vascular periférica. Por outro lado, a epinefrina liberada pela medula adrenal, em baixas doses possui maior afinidade por receptores β 2-adrenérgicos causando vasodilatação. De acordo com a região do leito vascular, a resposta simpática pode ser diferente, como em situações de luta e fuga, há vasoconstrição dos vasos superficiais da pele e dilatação das artérias dos músculos esqueléticos. Barorreceptores arteriais e cardiopulmonares e quimiorreceptores centrais regulam o fluxo simpático de acordo com as variações da PA (Gordan et al., 2015). O tônus vasomotor é mantido por descargas despolarizantes contínuas das fibras vasoconstritoras simpáticas estimuladas pelo centro vasomotor, mantendo um estado constante de vasoconstrição parcial do vaso (Guyton and Hall, 2006).

A PA mesmo sofrendo perturbações constantes de variáveis internas e ambientais, tem a tendência de se adaptar, retornando seu valor médio (*set point*) a fim de garantir a homeostase cardiovascular. Esse comportamento dinâmico da PA nos informa os mecanismos de controle cardiovascular e alterações no *set point* da PA nos remete a pensar em algum prejuízo desses sistemas de ajustes (Parati et al., 1995).

A figura 2 ilustra os mecanismos envolvidos nos ajustes, batimento a batimento, da PA. A PA tem como principais reguladores o débito sistólico (DS) e a resistência periférica total (RPT) e, de forma indireta, a FC. Todas essas variáveis fisiológicas são controladas pelo SNA, de forma predominante pelo simpático. Mudanças nesses parâmetros refletirão concomitantemente com alterações na PA. Esse controle realizado pelo SNA é iniciado nos receptores arteriais de pressão, de pH e pelos quimiorreceptores que enviam informações

aos centros de regulação cardiovascular do SNC, os quais irão ajustar o DC e a RPT de acordo com as necessidades metabólicas do organismo a cada momento (Grassi et al., 2010; Ashton, 2007). Assim, se houver aumento da liberação de Ach pelas fibras parassimpáticas pós-ganglionares, no coração a FC e o DS irão diminuir. Segundo a fórmula da PA ($PA = DC \times RPT$) os níveis pressóricos decairão, mesmo com o SNP não participando diretamente da inervação vascular. Ao contrário, a ativação simpática por ação da NE leva ao aumento da FC e DS e assim a PA irá aumentar. (Zhang et al. 2001). O tônus vagal do sistema barorreflexo não permite que a PA sofra bruscas oscilações em decorrência de alterações na homeostase cardiovascular, garantindo adequado fluxo sanguíneo às necessidades metabólicas do organismo.

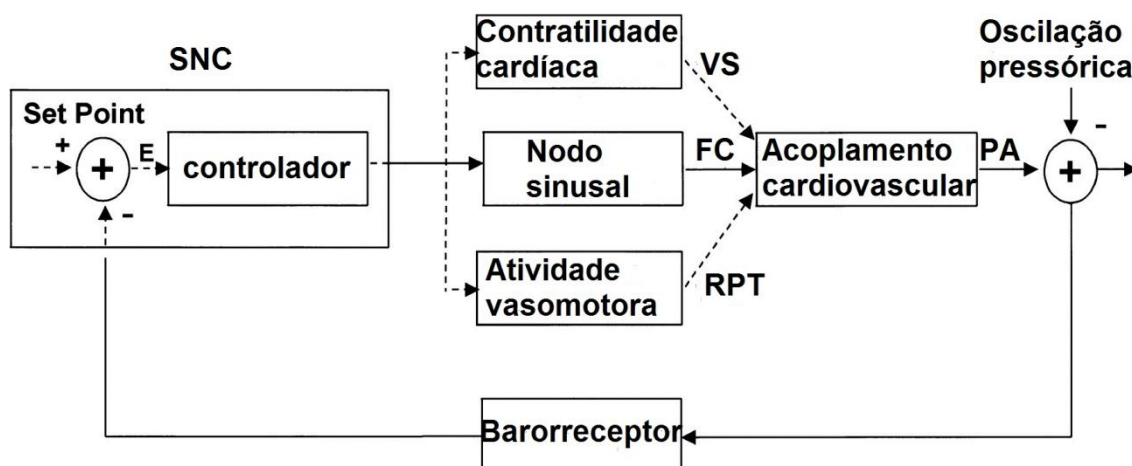


Figura 2: Representação esquemática dos mecanismos regulatórios da pressão arterial (PA). VS: volume sistólico; FC: frequência cardíaca; RPT: resistência periférica total (Adaptado de Zhang et al., 2001).

O ciclo respiratório influencia batimento-a-batimento o volume sistólico e assim as oscilações da PA. Durante a inspiração o DC do ventrículo esquerdo e a PA caem pela pressão negativa criada dentro da caixa torácica levando ao aumento da capacitância da circulação pulmonar. Na expiração o ciclo se inverte. As chamadas ondas de Mayer, ou vasomotoras, são oscilações pressóricas com frequências menores do que aquelas originadas pela respiração e que podem fazer a PA variar de 10 a 40 mmHg em registros da pressão arterial em animais e que também podem ser detectadas em humanos. Essas ondas refletem o período de ressonância (cerca 10 segundos)

do controle neural da PA pelos barorreceptores que ajustam a RPT e consequentemente têm a função de amortecimento da PA (Guyton; Swenne, 2012).

1.3 Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é um fenômeno fisiológico resultante das variações espontâneas do intervalo entre batimentos cardíacos consecutivos e reflete as flutuações dinâmicas do controle autonômico sobre o marcapasso cardíaco (Vanderlei et al., 2009; Peltola, 2012; Acharya et al., 2006). Essa modulação se dá pela integração de reflexos excitatórios e inibitórios periféricos e centrais que se dirigem para núcleos centrais e modulam a atividade periférica das fibras simpáticas e parassimpáticas que se projetam para o coração (Malliani e Montano, 2002).

Variáveis fisiológicas internas e externas levam informações ao SNC e, em função do seu processamento, ocorre a modulação autonômica. O SNA irá modificar a atividade cardíaca para mais (simpático) ou para menos (parassimpático) a fim de adaptar o organismo às necessidades do momento, isto é, do curto prazo. A análise da VFC consegue captar este processo porque a modulação rítmica da FC fornecida pelas atividades do simpático e do parassimpático ocorre em frequências distintas. O SNS atua no NSA numa frequência mais baixa do que a descarga vagal, pois, como explicado anteriormente, a atividade parassimpática se dá por processos mais rápidos (retardo estímulo-resposta) (figura 3). Estas distintas faixas de frequência permitem decompor a modulação autonômica sobre o batimento cardíaco de forma não invasiva (Aubert e Verheyden, 2008).

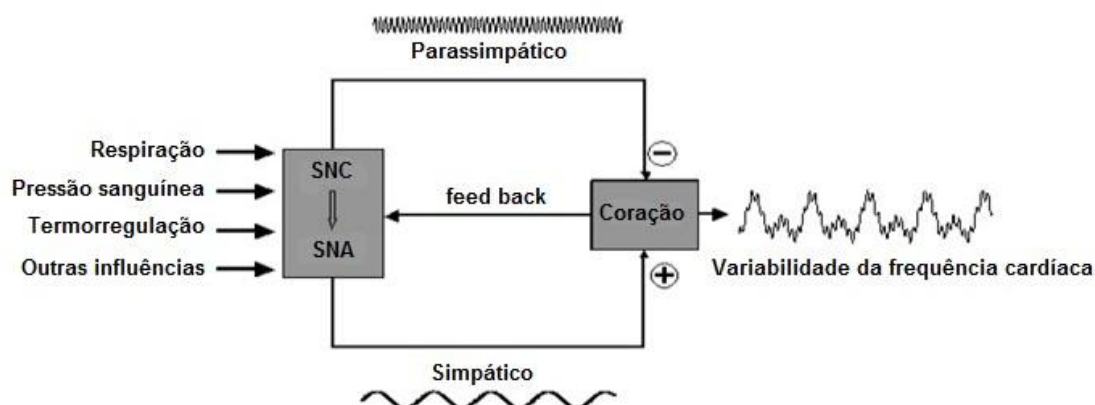


Figura 3: Regulação autonômica (extrínseca) da frequência cardíaca. SNC: sistema nervoso central; SNA: sistema nervoso autônomo (Adaptado de McCraty et al., 1996).

A VPA pode ser conceituada da mesma maneira como a oscilação batimento-a-batimento da pressão sistólica ou da pressão diastólica. As flutuações pressóricas são decorrentes de influências hormonais, neurais, externas, entre outras. Os valores pressóricos podem variar em até 60 mmHg ao longo das 24 horas (Krzych et al., 2013; Parati et al., 2013; Mancia e Grassi, 2000). Quando ocorre uma disfunção do SNA, experimentalmente através de desnervação sinoaórtica ou clinicamente em doenças como o IM e diabetes, observam-se grandes oscilações nos valores pressóricos, devido à redução da informação aferente dos barorreceptores arteriais para o tronco encefálico e assim, prejudicando o ajuste fino da PA. Nestas condições a VPA aumenta. Um sistema barorreflexo menos sensível permite que haja uma sobrecarga de estimulação simpática quando os níveis pressóricos decaem e o SNP não é capaz de regular adequadamente o tono vasomotor (Curi, 2009; Mancia e Grassi, 2000). A VPA é considerada preditor de risco de desenvolvimento de DCV e pode ser usada como prognóstico de mortalidade (Parati et al., 2012; Hata et al., 2002).

A VFC é mensurada através dos intervalos RR (iRR) do eletrocardiograma (ECG) ou pelo intervalo entre os picos consecutivos das ondas de pressão sistólica. A variância do iRR altamente variável. A FC e PA são variáveis fisiológicas formadas de um conjunto de agentes causadores oscilatórios e são analisadas não somente em função do tempo, mas é

possível observá-las quanto à sua amplitude e frequência (Akselrod et al., 1985).

A análise do domínio do tempo reflete as variações cíclicas que influenciam a geração da variabilidade pressórica e da FC, determinando o valor da FC e PA espontânea ou do intervalo entre batimentos e pulsos normais em qualquer ponto do tempo. Medidas estatísticas simples também podem ser utilizadas na análise do domínio do tempo, como por exemplo, a média (RR médio) e desvio padrão (SDNN) da FC e intervalos RR (Task Force, 1996; Acharya et al., 2006; Peltola et al., 2012).

A análise do domínio da frequência utiliza algoritmos matemáticos para identificar as faixas de frequência que são mais importantes para gerar as flutuações temporais de flutuação da FC e da PA. Existem duas metodologias principais de processamento do sinal (séries temporais do iRR, para a VFC, e da PAS-pressão arterial sistólica, para a VPA): as análises não paramétrica (técnica de transformação de Fourier-TTF) e paramétrica (modelo auto regressivo-AR). O modelo AR é muito utilizado para registros curtos de PA e FC, sendo capaz de decompor uma gama de componentes oscilatórios complexos em ondas simples que são avaliadas em termos de frequência e amplitude, a qual é a área de cada componente espectral (potência), tornando possível distinguir a influência simpática e parassimpática sobre a FC (Appel et al., 1989; Malliani et al., 1991; Huikuri and Makikallio, 2001). A potência de cada banda espectral é expressa em valores absolutos (ms^2) ou relativos. Só devem ser incluídos na série os batimentos de origem sinusal. Assim, qualquer interferência de batimentos ectópicos ou a presença de arritmias irão prejudicar a qualidade da análise (Frenneaux, 2004).

A análise espectral da VFC e VPA decompõe a densidade espectral da potência total em suas bandas de frequência (Hz) que correspondem aos componentes fisiológicos responsáveis pelo controle autonômico. As principais faixas de frequências espectrais delimitadas são: alta frequência (HF: do inglês high frequency), baixa frequência (LF: do inglês low frequency) e muito baixa frequência (VLF: do inglês very low frequency) (Malliani et al., 1991; Task Force, 1996) (Figura 4).

Na VFC, considera-se que o componente espectral HF é fortemente determinado pela modulação vagal da atividade do NSA. Em humanos essa faixa de frequência situa-se entre 0,15-0,4 Hz (Heathers, 2014; Acharya et al., 2006). Em ratos, a modulação vagal (componente HF) situa-se entre 0,75-2,5 Hz (Dias da Silva, 2009). A potencia LF tem influência de ambos os sistemas autonômicos, representando a modulação barorreflexa e está situada entre 0,04- 0,15Hz em humanos (Heathers, 2014; Acharya et al., 2006) e entre 0,2-0,75 Hz em ratos (Stauss and Kregel, 1996; Dias da Silva, 2009). Essa duas bandas espectrais citadas anteriormente são as mais utilizadas para o estudo autonômico. A faixa espectral VLF e de avaliação mais complexa e está associada com a regulação neuro-humoral da circulação, incluindo o sistema renina angiotensina-aldosterona e a termorregulação (Bigger et al., 1991; Chang et al., 2013;).

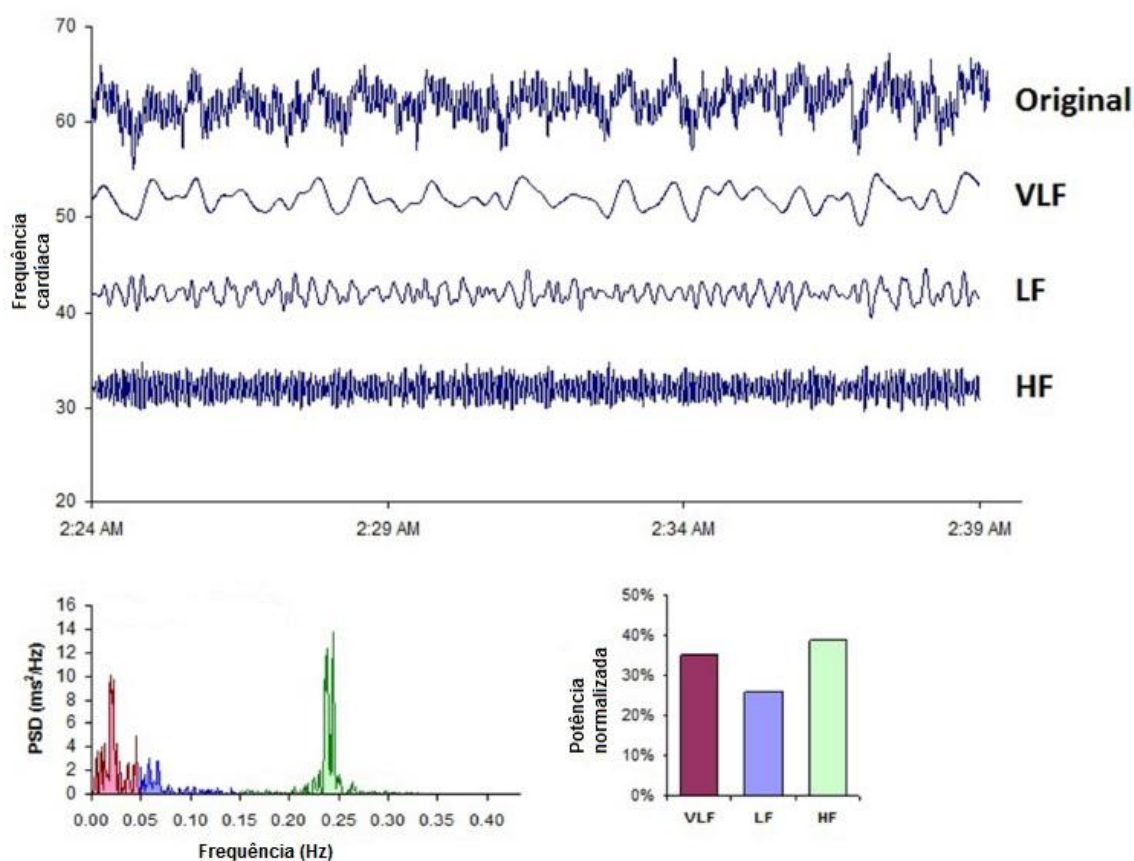


Figura 4: Registro típico da VFC de um indivíduo saudável e sua representação esquemática da análise espectral. O registro dos intervalos RR ou intervalos de pulso são armazenados em forma de tacograma e

posteriormente é computada a densidade espectral da potência (DEP) e as faixas espectrais. VLF: frequência muito baixa; LF: baixa frequência; HF: alta frequência (Adaptado de Shaffer et al., 2014).

Os componentes espectrais da VPA e VFC situam-se nas mesmas faixas de frequência, porém são interpretados de maneira diferente (Appel et al., 1989). Faixa espectral HF da PA é derivada da influência da atividade respiratória sobre o gradiente de pressão e retorno venoso e o seu efeito mecânico sobre os vasos torácicos (Saul et al., 1991; DeBoer et al., 1987). A potência de LF é resultado da atividade vasomotora (ondas de Mayer) e resistência periférica, portanto nos mostra a influência simpática sobre a PA, onde esta predomina sobre o SNP no controle dos vasos periférico (Stauss et al., 1998; Parati 1995; Koepchen, 1984).

Uma análise confiável do controle autonômico cardiovascular é possível de se obter com um registro curto (200 a 300 batimentos) de picos sistólicos batimento-a-batimento. Os algorítmicos são utilizados após amplificação, filtragem e conversão do sinal analógico para digital. O registro da dispersão temporal dos intervalos de pulso é representado por um tacograma. A mensuração no domínio da frequência é capaz de fornecer informação de caráter fisiológico sobre o controle cardiovascular mais acurado comparado com o domínio do tempo, mas essas duas análises se correlacionam fortemente, como exemplos, o desvio padrão do iRR corresponde à potencia total do espectro e o índice temporal pNN50, usado em estudos humanos, se correlaciona com o componente espectral HF (Task Force, 1996; Malliani et al., 1991).

O estudo da variabilidade da FC e PA tem sido amplamente utilizado para avaliar doenças onde haja comprometimento da modulação simpato-vagal. A relativa facilidade de obtenção destes dados, um método não-invasivo para humanos, tem mostrado ser uma estratégia de grande valor em desordens do SNA, como o IM, pois proporciona prognóstico de evolução da doença. O aumento da relação LF/HF após o IM tem sido considerado como preditor de mortalidade em pacientes, pois permite identificar precocemente o risco do indivíduo na fase crônica da doença desenvolver complicações

comuns, como as arritmias ventriculares, fibrilação atrial e morte súbita (Buccelletti et al., 2009; Caetano e Alves, 2015; Malik et al., 1989). A VPA também mostra valor como instrumento de avaliação autonômica, porém ainda é pouco estudada e utilizada como um índice de prognóstico após o IM (Hocht, 2013).

1.4 Infarto do miocárdio

1.4.1 Epidemiologia

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de morte no mundo e contribuem com aproximadamente 17,3 milhões de óbitos anualmente. Dentre as DCV, as doenças isquêmicas do coração são responsáveis por cerca de 7,2 milhões destas mortes (WHO, 2004; WHO, 2011). Segundo dados da OMS, no mundo e no Brasil as doenças isquêmicas do coração foram a principal causa de mortes em indivíduos adultos em 2012, representando 13% e 10,5%, respectivamente, das dez principais causas de óbitos. Além disso, neste mesmo ano os maiores índices de anos de vida perdidos por mortalidade precoce foram causados pelo grupo de DCV, onde neste inclui-se o IM (WHO, 2015; WHO, 2014).

A mortalidade em decorrência das DCV vem declinando nas últimas duas décadas, principalmente nos países desenvolvidos onde se investiu fortemente em medidas de saúde preventiva e ações interventivas, porém as DCV, destacando-se as enfermidades isquêmicas do coração, ainda ocupam o primeiro lugar no ranking das principais causas de morte mundial (Camm et al., 2004; WHO, 2011).

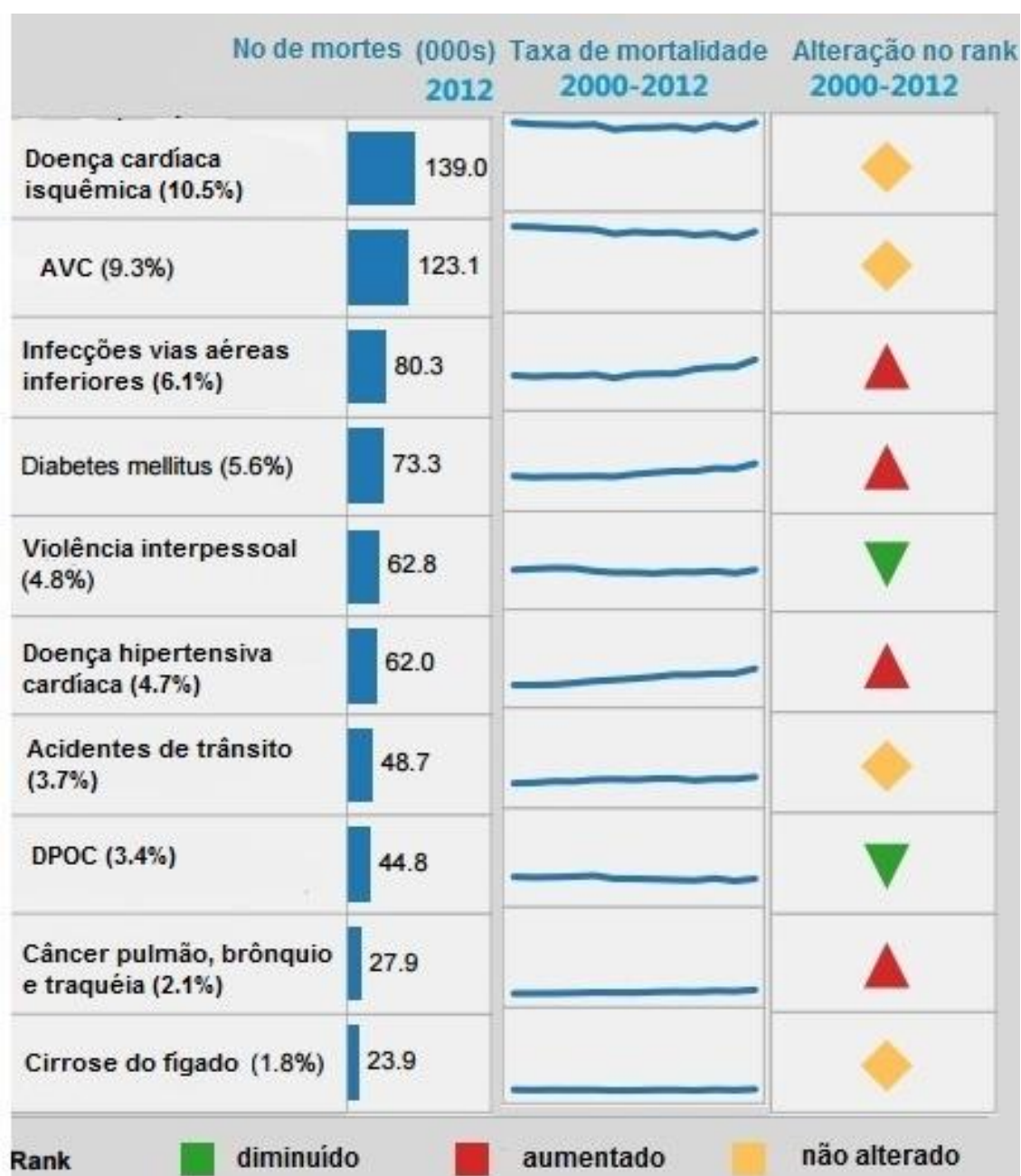


Figura 5: Dez principais causas de mortes no Brasil em 2012. Doença cardíaca isquêmica foi a principal causa de morte, matando 139,0 mil pessoas em 2012 (Adaptado de WHO, 2015)

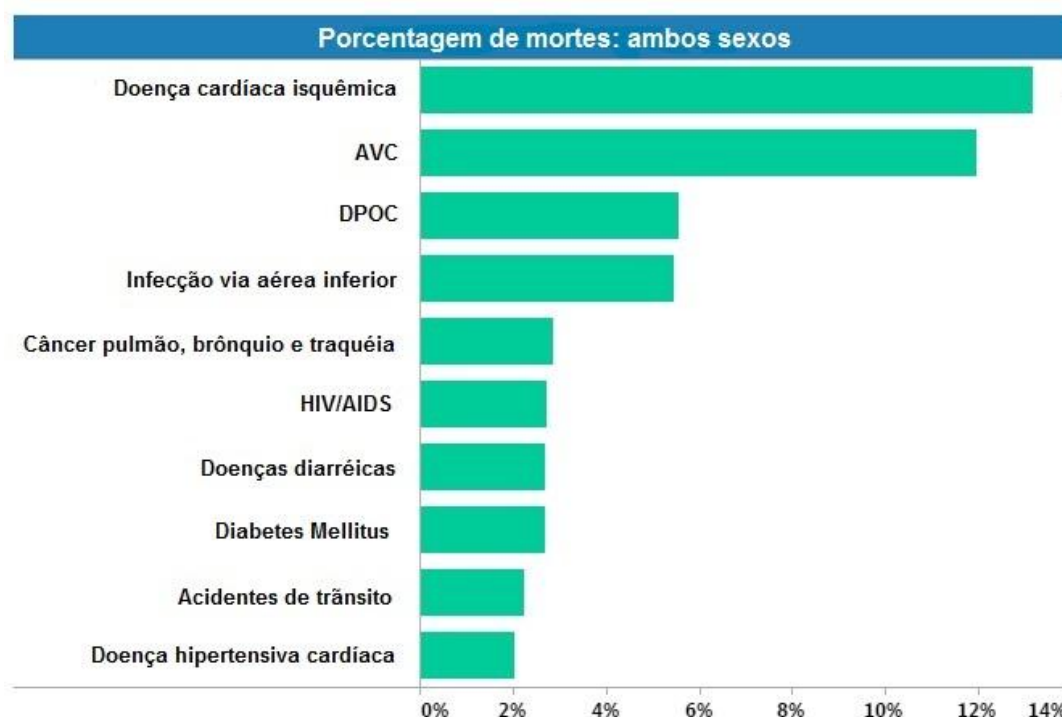


Figura 6: Mortalidade e estimativas globais de saúde. Dez principais causas de morte em 2012 (por sexo) (Adaptado de WHO, 2014).

1.4.2 Alterações autonômicas no infarto do miocárdio

Desbalanceamento autonômico está presente em certas condições patológicas como diabetes, hipertensão arterial e IM. O aumento da atividade simpática propicia ao coração maior vulnerabilidade de desenvolver arritmias e insuficiência e reduz o papel antiarrítmico do tônus vagal (Bai, et al., 2008).

Infarto do miocárdio (IM) culmina agudamente com redução da atividade de bomba cardíaca e consequentemente redução do DC e PA. A extensão e localização da área infartada determinam a intensidade das alterações hemodinâmicas. Por exemplo, grande lesão isquêmica na parede anterior do VE terá como consequência menor área de tecido miocárdico viável para exercer a contração sistólica e portanto, maiores serão as alterações hemodinâmicas, como a redução da ejeção ventricular e PA (Packer, 1992; Lanfranchi et al., 2002).

Alterações neurohumorais fazem parte do processo de remodelamento cardíaco e ocorrem para minimizar o efeito da lesão miocárdica. Nos corações infartados, hiperatividade simpática e retirada parassimpática no NSA são adaptações neurais que ocorrem precocemente para compensar a redução da atividade mecânica do coração devido à morte de tecido miocárdico funcional visando manter o débito sistólico e PA em apropriadas condições fisiológicas (Mann and Bristow, 2005; Karakas et al., 2013).

Aumento da responsividade simpática pode ser observado pela taquicardia presente na fase aguda do IM em animais experimentais (Mill, et al., 1991). Após início do declínio da capacidade de bomba cardíaca, são ativados os mecanismos compensatórios a fim de preservar o DC. Ao longo do tempo esses ajustes podem ser danosos ao coração e todo organismo, desencadeando lesões secundárias e o surgimento de sintomas como a redução da ejeção ventricular (Mann and Bristow, 2005).

Dentro das primeiras horas após a oclusão coronária isquêmica o tecido cardíaco sofre morte celular por apoptose, principalmente por diminuição das proteínas anti-apoptóticas. Células cardíacas da região isquêmica tornam-se inviáveis para exercer a sua função e, portanto, a mecânica cardíaca torna-se prejudicada. Este processo persiste por cerca de 12 semanas após a isquemia cardíaca (Mill et al., 2011). A redução da resposta vagal e o aumento simpático ocorrem, pois reflexos cardiovasculares simpatoinibitórios, como exemplo o sistema barorreflexo, mecanoreceptores arteriais e receptores pulmonares, estão suprimidos e os impulsos aferentes cardiovasculares excitatórios ao SNS, como os quimiorreceptores arteriais e barorreceptores cardiopulmonares estão aumentados (Triposkiadis et al., 2009; Floras, 2009).

Observa-se após as primeiras horas de isquemia uma depressão da atividade barorreflexa contribuindo para a redução da atividade protetora do tônus parassimpático. A redução da resposta reflexa bradicárdica após estímulo vagal em humanos infartados é um indício de que a atividade parassimpática esteja reduzida (Lombardi et al., 1987).

O aumento da atividade simpática, a curto prazo, é benéfica para proteger a função sistólica ventricular do coração, porém períodos mais longos

de exacerbação da descarga simpática tornam-se prejudiciais ao coração e à circulação de modo geral. O sistema nervoso central também contribui para a simpatoexcitação no IM, recebendo informações advindas de várias partes do organismo que sinalizam para a estimulação de mecanismos que facilitem o remodelamento cardíaco, favorecendo o aumento de descarga simpática (Triposkiadis et al., 2009). A angiotensina II (Ang II) produzida a nível central tem sido imputada como um importante fator para o aumento da atividade simpática após IM. Tanto a Ang II como os receptores do tipo AT₁ estão presentes em áreas do SNC envolvidas na regulação simpática, como o RVLM, exacerbando assim o fluxo simpático para o coração infartado. Além disso, o aumento de impulso simpático inibe reflexamente o tônus parassimpático, pois a NE apresenta um efeito inibitório a Ach, o contrário também acontece, quando há predomínio parassimpático a Ach atenua a liberação de NE pelas fibras eferentes simpáticas (Kobayashi et al., 2013; Kish et al., 2012; Zhang et al. 2001).

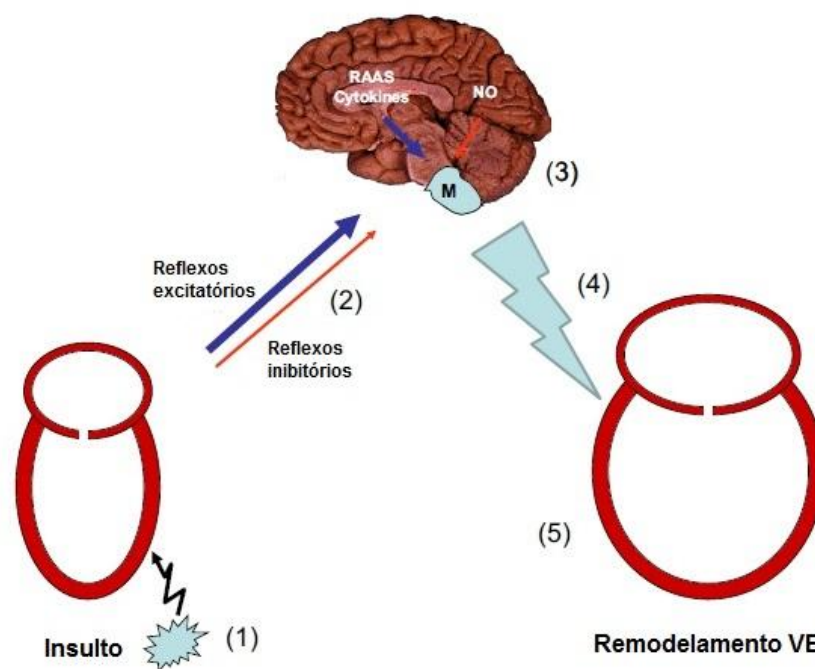


Figura 7: Ativação simpática após o infarto do miocárdio. RAAS: sistema renina-angiotensina-aldosterona; NO: óxido nítrico; M: medula; VE: ventrículo esquerdo (Adaptado de Triposkiadis et al., 2009).

Disfunção autonômica é um forte indício para o desenvolvimento de arritmias ventriculares e morte súbita em pacientes infartados e com insuficiência cardíaca da a redução do limiar de excitabilidade cardíaca pelo aumento da descarga simpática e redução da cardioproteção desempenhada pelo parassimpático (Patel et al., 2010).

Diversas abordagens para avaliar o controle autonômico cardiovascular fundamentam-se na análise de séries temporais de variações da FC e PAS, nos domínios do tempo de da frequência (Parati et al., 2001; Lombardi e Mortara, 1998). Na fase aguda do IM há um desbalanceamento do controle simpato-vagal sobre o coração e vasos periféricos, tendo sido observado prejuízo do ajuste fino momento a momento da FC. Estudos mostram que em corações infartados ocorre hiperatividade simpática, contribuindo para diminuir os parâmetros temporais de VFC. Uma possível redução do tono vagal neste processo, entretanto, não pode ser descartada. Redução das variáveis no domínio do tempo da VFC indica uma atenuação da modulação vagal após IM. A análise espectral pode contribuir para esclarecer esse ponto já que o componente de frequência mais elevado da análise espectral da VFC (HF) está mais relacionado ao controle vagal sobre os batimentos cardíacos (Lanfranchi PA, 2002; Jones CM, 2008; Kruger et al., 1997; Bigger et al., 1989; Acharya et al., 2006). Há poucos estudos sobre as alterações da VPA no IM e por isso ainda ocorrem muitas divergências entre os trabalhos. Insuficiência cardíaca após doença isquêmica cardíaca pode está relacionada com redução das oscilações circadianas da PA (Giles et al., 2001).

Apesar de evidências de recuperação gradual do equilíbrio autonômico ao coração após o IM em humanos observadas pela análise da VFC (Bigger et al., 1991, Casolo et al., 1992, Flapan et al., 1993) nesse modelo de estudo pacientes estão geralmente sob a influência de drogas que interferem na atividade de neurônios autônomos (beta-bloqueadores, os antagonistas da angiotensina-II, etc). Além disso, as alterações emocionais que acompanham os acidentes isquêmicos tornam difícil acompanhar as mudanças temporais de VFC e VPA nestas condições. Dentro deste contexto, os estudos experimentais em modelos animais são de grande utilidade. Entretanto, há escassez de estudos nesta área.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar as alterações da modulação autonômica sobre o sistema cardiovascular após infarto do miocárdio.

2.2 Objetivo específico

Analisar a relação entre o curso temporal de evolução das modificações na modulação autonômica sobre a FC e PA nas fases aguda, subaguda e crônica do IM produzido experimentalmente em ratos usando como ferramentas de análise a VFC e VPA nos domínios do tempo e da frequência.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais

Foram utilizados ratos Wistar machos, com 8 a 10 semanas de vida no início do protocolo e com peso inicial entre 200 a 300 gramas. Todos os animais eram provenientes de colônia de criação própria do Biotério Central do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. Todos os procedimentos foram feitos dentro dos preceitos éticos para estudo em animais e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo n°. 073/2013). Os animais tiveram livre acesso a água e ração (Labina[®], Purina) durante todo o período experimental e foram submetidos a um ciclo circadiano padrão de 24 horas (12 h claro/12 h escuro) em sala com controle de temperatura (20-24°C) e umidade (50 a 70%). Os experimentos foram realizados em acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (Publicação NIH No. 85-23, revista em 1996).

3.2 Grupos Experimentais

Inicialmente os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais a serem submetidos à ligadura coronariana para produção de infarto (grupo IM) ou cirurgia fictícia (grupo controle = operados SHAM). Subgrupos destes dois grupos foram estudados 1, 3, 7 e 21-28 dias após o procedimento cirúrgico. A divisão dos grupos e o número de animais em cada grupo (n) são dados na figura 8.

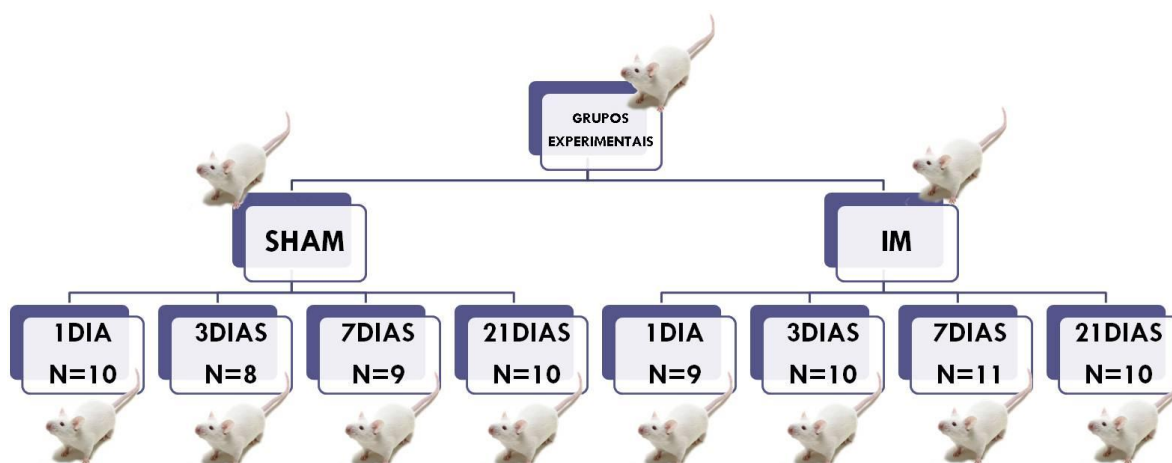


Figura 8: Diagrama representativo dos grupos experimentais e o respectivo número (n) de animais utilizados.

3.3 Produção do Infarto do Miocárdio

O IM foi produzido de acordo com a técnica padrão do laboratório, já descrita em publicações anteriores (Mill et al., 1990; Baldo et al., 2000). Os animais foram pesados e anestesiados com solução de quetamina (30mg/Kg, AGENER, BRASIL) e xilazina (10mg/Kg, BAYER, BRASIL) administrada por via intramuscular. Após perda da consciência e dos reflexos, os membros do animal foram fixados a uma bancada cirúrgica em posição supina e submetido à depilação e assepsia da pele com álcool 70% na região esquerda do tórax. Após dissecação dos músculos peitorais foi feita uma toracotomia no 4º espaço intercostal para exposição do coração e implantação de ligadura permanente com fio nylon monofilamento 6-0 em torno dos ramos descendentes da artéria coronária anterior esquerda. A ligadura neste ponto produziu lesão isquêmica extensa da parede anterior e lateral do ventrículo esquerdo.

Os animais controles (grupos SHAM) foram submetidos a uma cirurgia fictícia onde todos os passos cirúrgicos foram executados, exceto que a oclusão com o fio de sutura em torno dos vasos coronários. Após a ligadura coronária ou cirurgia fictícia o coração foi reposicionado e o tórax foi suturado por planos. Em seguida, o animal foi colocado em câmara de recuperação de anestesia para vigilância de arritmias.

Neste procedimento não é usada, de rotina, ventilação assistida. Entretanto, havendo parada respiratória era realizada ventilação mecânica até a recuperação da respiração espontânea. O IM era confirmado após o procedimento cirúrgico pela obtenção de um registro do eletrocardiograma (ECG). A presença de onda Q patológica em D1 foi padronizada no nosso laboratório como sinal patognomônico de isquemia ventricular esquerda extensa (Pimentel et al., 2012). Após a cirurgia os animais eram colocados em gaiolas separadas com livre acesso a água e comida.

3.4 Canulação arterial

Para o procedimento de canulação da artéria femoral esquerda, os animais anestesiados eram posicionados em posição supina com seus membros fixados na bancada cirúrgica. Após depilação e assepsia, um pequeno corte foi realizado a região referente à localização dessa artéria, os tecidos foram separados e a artéria foi dissecada para sua visualização. Em seguida, foi realizado uma pequena incisão no vaso para a passagem do cateter PE10 conectado a PE50 preenchido com solução de heparina (1:50), sendo este exteriorizado e fixado na região dorsal do animal.

Os animais dos grupos infarto e controle que foram estudados 1 dia após o procedimento cirúrgico foram submetidos, ainda durante a anestesia de ligadura coronária, à canulação da artéria femoral esquerda para implantação de catéter (PE10) e, logo em seguida, foram submetidos à ligadura da coronária ou cirurgia fictícia. Os demais grupos a serem estudados 3, 7 e 21-28 dias após a cirurgia passaram pelo procedimento de canulação da artéria femoral no dia anterior à investigação da variabilidade. Neste caso, o procedimento anestésico foi o mesmo já descrito.

3.5 Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial

Com o animal acordado o cateter preenchido com solução de heparina (1:50 UI) e previamente introduzido na artéria femoral esquerda e fixado na região dorsal do pescoço do rato, foi conectado a um transdutor de pressão (TRI 21, Letica Scientific Instruments, Espanha) e amplificado (ML 110,

ADInstruments) para a medida contínua da PA pulsátil por um período de 30 minutos (após a estabilização do registro).

O sinal analógico foi convertido digitalmente em um sistema de aquisição de dados (PowerLab 4 SP, ADInstruments e analisado em computador com software dedicado (Chart 5.5.1) programado para detectar os picos da onda sistólica com frequência de captura de 1 KHz. Os valores de pico da PAS e os intervalos entre os picos foram transformados em séries temporais e utilizados na análise da VPA e da VFC (Souza et al., 2008). Após obtenção dos registros as séries foram analisadas *off line*.

Inicialmente foi feita uma inspeção visual para remoção manual dos batimentos ectópicos e dos artefatos (movimentação do animal, lavagem de cânula, etc). Em seguida, as séries de registro da PAS e de intervalos de pulso (IP) foram filtradas com parâmetros apropriados para registros em ratos (Dantas et al., 2013). As séries de PAS foram usadas para análise da VPA e a VFC foi obtida a partir das séries de IP (correspondentes aos intervalos R-R do ECG), as quais foram submetidas à análise temporal e espectral (Task Force, 1996).

Utilizamos a variância da pressão sistólica e dos intervalos de pulso nas análises temporais. As series temporais de IP e de pressão sistólica foram divididas em segmentos contínuos de 300 batimentos com sobreposição de 50%. Após calcular a média dos valores e a variância de cada segmento, foi realizada análise espectral pelo modelo autorregressivo com ordem de modelo fixa em 16 (algoritmo desenvolvido em nosso laboratório) utilizando o software programado de modo personalizado em MATLAB. (Dantas, et al., 2012). Componentes oscilatórios foram calculados pelo método Yule-Walker com a recursão Levison-Durbin. Os componentes oscilatórios foram divididos nas seguintes bandas: frequência muito baixa (VLF, 0,01-0,20 Hz), baixa frequência (LF, 0,20-0,75 Hz) e de alta frequência (HF, 0,75-2,50 Hz). Componentes de baixa e alta frequência foram expressos em valores absolutos (ms^2) e também em unidades normalizadas (u.n.) obtidas após divisão da potência de um dado componente espectral pela potência total e subtração do componente VLF e multiplicando a razão por 100. A relação LF/HF foi obtida dividindo os

componentes de baixa e alta frequência em unidades normalizadas (Lombardi et al., 1996, da Task Force, 1996).

Todos os registros da PA foram realizados no período da manhã (08:00-12:00) a fim de evitar a influência das variações circadianas na modulação autonômica cardiovascular e para se obter o registro com menor grau de atividade motora dos animais. Durante o período do registro pressórico o animal permanecia acordado dentro de uma gaiola num ambiente fechado e silencioso para reduzir a influência dos estressores externos. Vale ressaltar que todos os registros foram obtidos na ausência de agentes farmacológicos.

3.6 Análise Morfométrica Cardíaca

Após a coleta dos dados de pressão arterial, os animais foram pesados e eutanaziados com sobredose anestésica. O tórax foi rapidamente aberto, o coração retirado e lavado em solução salina. Os ventrículos foram separados dos átrios por secção do anel átrio-ventricular e a parede livre do ventrículo direito foi cuidadosamente separada do ventrículo esquerdo. O excesso de água do músculo cardíaco foi removido com papel de filtro e as câmaras pesadas. O peso relativo das câmaras ventriculares foi calculado em função do peso corporal. Para quantificação da área de infarto, o ventrículo esquerdo foi congelado e cortado em 3 fatias transversais as quais foram imersas em solução a 1% de cloreto de trifêniltetrazólio (TTC) em solução tampão (pH 7,4) . Os fragmentos foram incubados por 10 minutos em banho-maria a 37°C. Após este procedimento, imagens dos cortes foram obtidas em Scanner (Scanjet 2400, Hewlett-Packard Inc., EUA). Posteriormente a área isquêmica foi analisada com o software ImageJ (v. 1.43, National Institute of Health, EUA). A extensão do infarto nos grupos IM 1 e 3 dias foi expressa como porcentagem da área total do ventrículo esquerdo marcada pelo TTC. Nos grupos IM 7 e 21 dias o perímetro epicárdico do ventrículo esquerdo era manualmente delimitado com o auxílio do programa de análise de imagens ImageJ (v. 1.43u, National Institute of Health, EUA). Em seguida, o perímetro epicárdico correspondente a área infartada era delimitada (Baldo et al., 2008) e a extensão do IM expressa como a fração da circunferência ventricular esquerda coberta pela cicatriz. .

3.7 Análise Estatística

Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A normalidade da distribuição dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. A comparação entre médias dos grupos foi feita por análise de variância (ANOVA) de duas vias usando o modelo completamente randomizado. A análise *post hoc* para detectar diferenças entre médias foi feita pelo teste de Fisher. O teste *t* de Student foi utilizado para comparação desejada entre duas amostras independentes.

Utilizou-se o software Stata 12.0/ LP e a construção das figuras foi realizada com o auxílio do *software* OriginPro (v. 7.5, OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA). As diferenças entre os grupos são consideradas significantes quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

A média da área de infarto nos grupos IM foi de $44,5 \pm 3,5\%$. O peso corporal dos animais SHAM e IM foi semelhante antes da cirurgia. Uma pequena perda de peso corporal foi observada durante a primeira semana após cirurgia. No entanto, esta diminuição foi semelhante em ratos submetidos à ligadura coronária ou cirurgia fictícia sugerindo um trauma cirúrgico semelhante nos dois grupos (peso corporal inicial IM-1 vs peso corporal final MI-1: 273 ± 4.5 vs 252 ± 4.0). A Tabela 1 mostra o peso corporal dos grupos estudados após 1, 3, 7 e 21 dias após a cirurgia e o peso absoluto dos ventrículos direito e esquerdo. Ao longo do período de acompanhamento uma recuperação progressiva do peso corporal perdido nos primeiros 3 dias após a cirurgia foi observada, embora sem diferença estatística. Esta recuperação foi a mesma em ratos submetidos a ligadura coronária ou cirurgia fictícia. Os pesos das câmaras cardíacas mostram um desenvolvimento da hipertrofia do ventrículo direito nos ratos com IM estudados 21 dias após a ligadura coronária.

No dia seguinte à cirurgia, a pressão arterial média de ratos infartados foi menor em comparação com os controles. Essa diferença permaneceu significativa ao longo de todo o período de observação (Tabela 1) apesar de ter sido observada uma lenta recuperação dos valores pressóricos uma vez que a diferença pressórica entre os grupos IM e SHAM passou de 20 mmHg um dia após a cirurgia para 11 mmHg nos grupos estudados 21 dias após a cirurgia.

Variáveis		1 dia	3 dias	7 dias	21 dias	p
N	OS	10	8	9	10	
	IM	9	10	11	10	
Peso corporal inicial (g)	OS	270 ± 4.51	255 ± 13.00	234 ± 9.55	251 ± 10.00	0.659
	IM	273 ± 4.50	247 ± 4.08	245 ± 5.00	260 ± 8.00	
Peso corporal final (g)	OS	253 ± 4.22	238 ± 11.00	247 ± 9.31	316 ± 12.00	0.78
	IM	252 ± 4.00	223 ± 3.47	245 ± 4.92	316 ± 8.00	
Peso VE (g)	OS	0.574 ± 0.02	0.523 ± 0.02	0.520 ± 0.01	0.652 ± 0.02	0.432
	IM	0.616 ± 0.02	0.551 ± 0.01	0.554 ± 0.02	0.680 ± 0.02	
Peso VD (g)	OS	0.171 ± 0.02	0.196 ± 0.01	0.195 ± 0.01	0.207 ± 0.01	0.007
	IM	0.185 ± 0.01	0.190 ± 0.01	0.180 ± 0.01	0.295 ± 0.01†	
PAM (mmHg)	OS	112 ± 2.80	111 ± 2.25	111 ± 2.75	117 ± 3.32	0.0000
	IM	92 ± 1.80**	100 ± 3.02*	99 ± 1.17#	106 ± 4.00§	

Tabela 1: Pesos corporal e ventricular e pressão arterial média. Valores são expressos como média ± EPM. OS-1= Operado sham 1 dia; IM-1= Infarto do miocárdio 1 dia; OS-3= Operado sham 3 dias; IM-3= Infarto do miocárdio 3 dias; OS-7= Operado sham 7 dias; IM -7= Infarto do miocárdio 7 dias; OS -21= Operado sham 21 dias; IM -21= Infarto do miocárdio 21 dias; PAM= Pressão arterial média. N= número de ratos. P<0.01: **OS -1 vs IM-1; †OS-21 vs IM-21. P<0.05: *OS-3 vs IM -3; #OS-7 vs IM-7; §OS-21 vs IM-21. Todos os dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. p= no teste F Interação ANOVA-duas vias.

A FC manteve-se estável ao longo do período de acompanhamento nos ratos OS. No entanto, ao contrário da PA, a FC foi maior nos ratos estudados 1 e 3 dias após o IM (Figura 9). Uma diminuição progressiva foi observada nos subgrupos de ratos com IM estudados 7 e 21 dias pós ligadura coronariana. Não foi observada diferença significativa de FC basal entre o grupo de ratos estudados 21 dias após a cirurgia (SO-21 = 339 ± 10 bpm vs MI-21 = 375 ± 17 bpm; P> 0,05).

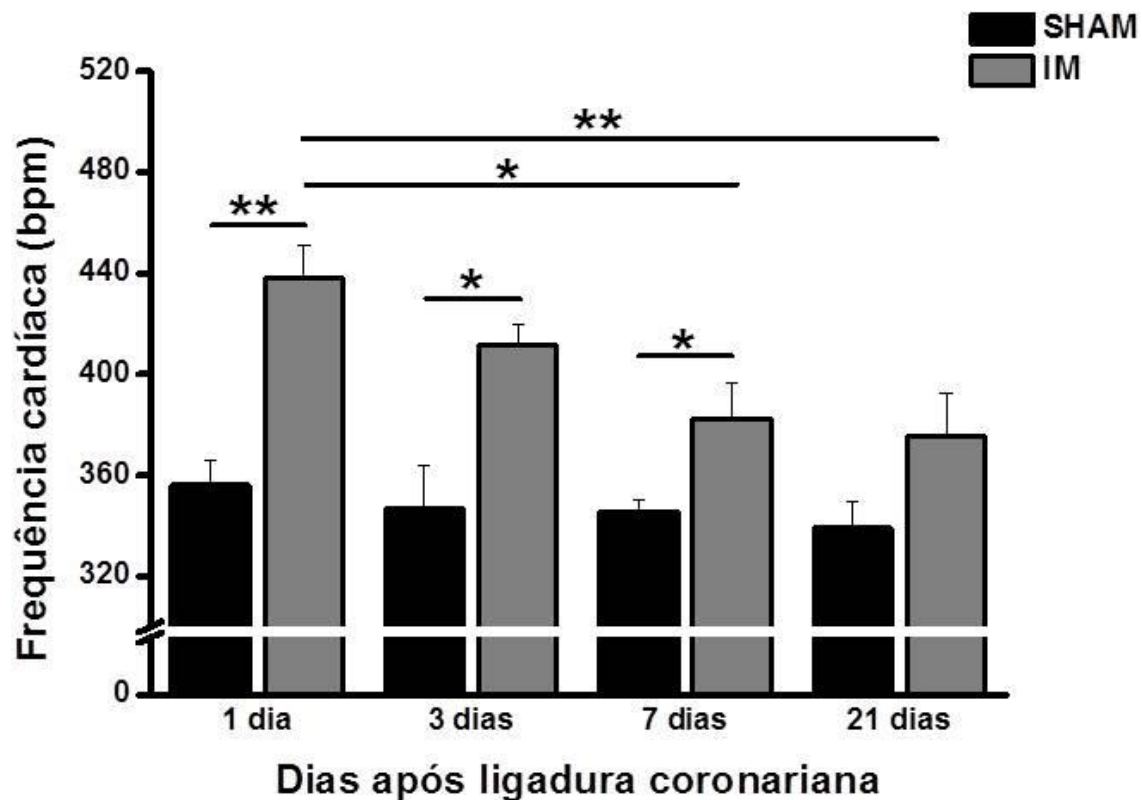


Figura 9: Frequência cardíaca (bpm) avaliada ao longo do tempo nos grupos experimentais. Resultados são expressos com média \pm EPM. Dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. *P < 0.05; **P < 0.01; P = 0.001 no teste F de interação, ANOVA-duas vias.

Variáveis		1 dia	3 dias	7 dias	21 dias	p
Variância IP (ms ²)	OS	21.70 ± 2.04	29.00 ± 3.50	27.30 ± 2.30	22.30 ± 3.44	0.0112
	IM	17.26 ± 3.25	38.78 ± 6.00a	26.10 ± 2.04c	30.50 ± 4.70d	
VLF (ms ²)	OS	9.60 ± 0.84	13.22 ± 6.37	10.90 ± 0.92	9.84 ± 1.62	0.0923
	IM	5.70 ± 1.40	13.15 ± 2.13b	9.50 ± 1.10	11.34 ± 2.20d	
HF (ms ²)	OS	5.64 ± 0.55	7.85 ± 1.17	7.77 ± 0.98	6.00 ± 1.15	0.0423
	IM	3.91 ± 0.92	9.48 ± 1.66c	7.22 ± 0.90	9.30 ± 1.70d	
LF (ms ²)	OS	0.82 ± 0.24	0.78 ± 0.14	1.12 ± 0.50	1.16 ± 0.40	0.9141
	IM	0.78 ± 0.36	1.21 ± 0.44	0.55 ± 0.12	0.88 ± 0.47	
LF/HF	OS	0.14 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.24 ± 0.15	0.19 ± 0.05	0.6422
	IM	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.02	
HF + LF	OS	6.46 ± 0.67	8.63 ± 1.22	8.90 ± 0.87	7.16 ± 1.38	0.2691
	IM	4.70 ± 1.21	10.70 ± 2.00b	7.77 ± 0.94	10.18 ± 2.00d	

Tabela 2: Análise temporal e espectral da variabilidade da frequência cardíaca. Valores são expressos como média ± EPM. OS-1= Operado sham 1 dia; IM-1= Infarto do miocárdio 1 dia; OS-3= Operado sham 3 dias; IM-3= Infarto do miocárdio 3 dias; OS-7= Operado sham 7 dias; IM -7= Infarto do miocárdio 7 dias; OS -21= Operado sham 21 dias; IM -21= Infarto do miocárdio 21 dias. P<0.01: aIM-1 vs IM-3;. P<0.05: bIM-1 vs IM-3; cIM-3 vs IM-7; dIM-1 vs IM-21. Todos os dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. p= no Teste F Interação ANOVA-duas vias.

A Tabela 2 apresenta a VFC nos domínios do tempo e da frequência de animais OS e IM no período pós-operatório. A variância do período entre batimentos cardíacos manteve-se estável ao longo do tempo no grupo OS, enquanto no grupo submetido à ligadura coronária, maior variância IP foi observada quando se analisa todo o período incluído no presente estudo. Na análise de domínio da frequência, foi observado que a potência do componente VLF foi predominante em ambos os grupos em todo período pós-operatório. O poder absoluto dos componentes HF e LF da VFC foi menor nos ratos infartados estudados um dia após a ligadura coronária (HF + LF = 4,7). No entanto, nenhuma mudança significativa foi vista no componente absoluto de LF da VFC pós-IM e um padrão não consistente foi observado ao longo do tempo. A rápida recuperação da VFC parece ocorrer em animais IM, já que os valores nos grupos estudados três dias após a cirurgia foi maior nos ratos com

MI em comparação com OS. O índice LF/HF da VFC não foi significativamente alterado pelo IM.

A figura 10 mostra o componente espectral HF em unidades normalizadas. O componente HF, refletindo a modulação parassimpática dos batimentos cardíacos, foi significativamente reduzida na fase aguda do infarto (1 e 3 dias), com uma recuperação progressiva ao longo do tempo, de modo que não foi encontrada diferença estatística para essa variável na comparação com ratos MI e SHAM estudados aos 7 e 21 dias do período pós-cirúrgico.

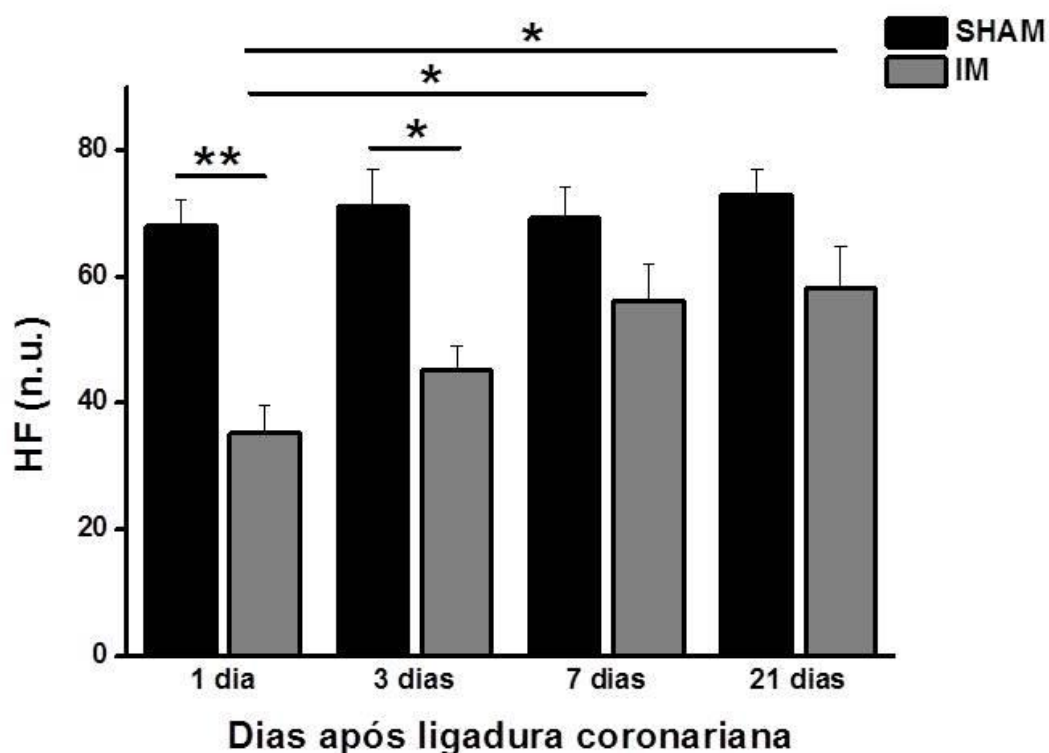


Figura 10: Componente espectral HF (n.u.) da VFC ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais. Resultados são expressos como média \pm EPM. Dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $P = 0.001$ no teste F de interação, ANOVA-duas vias

A Figura 11 mostra a variação do componente espectral LF da VFC em unidade normalizada. Valores menores foram encontrados nos ratos MI ao longo de todo o período de observação, enquanto que uma tendência para

valores crescentes foi encontrada no grupo OS. Assim, em grupos estudados aos 21 dias do período pós-cirúrgico o componente LF foi maior ($P < 0,05$) no grupo OS, em comparação com o grupo MI.

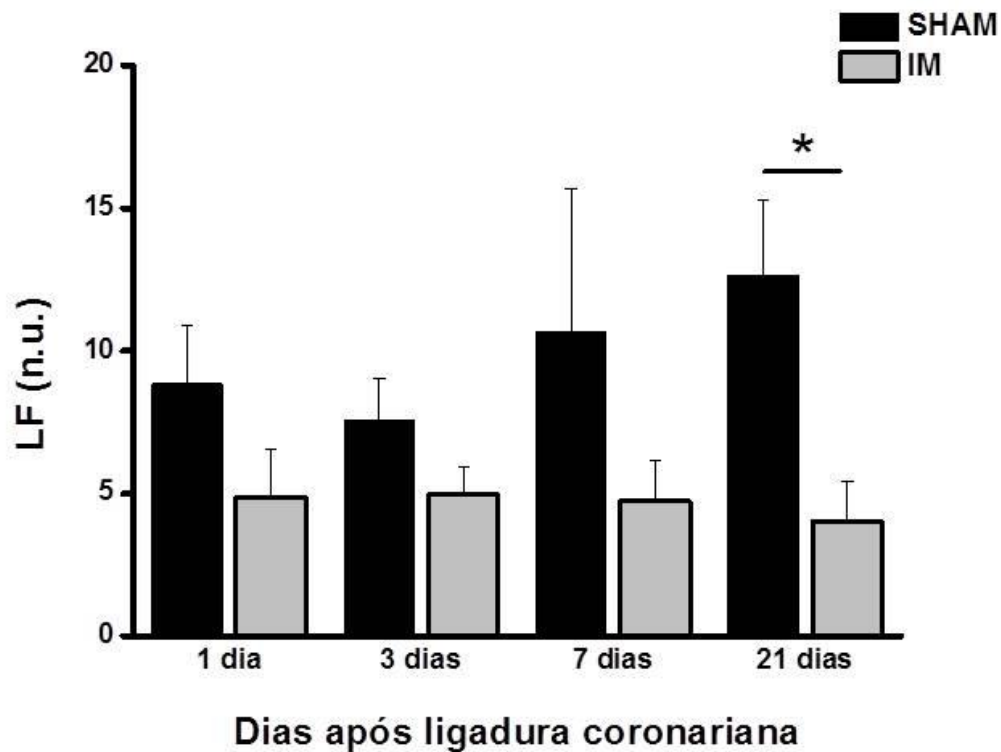


Figura 11: Componente espectral LF (n.u.) da VFC ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais. Resultados são expressos como média \pm EPM. Dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $P = 0.1240$ no teste F de interação, ANOVA-duas vias

Variáveis		1 dia	3 dias	7 dias	21 dias	p
Variância da pressão (mmHg)	OS	8.55 ± 0.80	9.11 ± 1.08	7.92 ± 1.10	8.60 ± 0.66	0.0006
	IM	5.63 ± 0.73**	5.93 ± 0.30##	5.30 ± 0.25#	8.43 ± 0.56def	
VLF (mmHg)	OS	4.30 ± 0.51	5.72 ± 0.68	4.50 ± 0.55	4.83 ± 0.34	0.0000
	IM	2.10 ± 0.38**	2.80 ± 0.27##	2.56 ± 0.21+	3.94 ± 0.44gh	
HF (mmHg)	OS	1.30 ± 0.20	0.96 ± 0.14	1.09 ± 0.11	1.30 ± 0.24	0.2382
	IM	0.98 ± 0.20	0.93 ± 0.07	1.17 ± 0.10	1.40 ± 0.20	
LF (mmHg)	OS	0.86 ± 0.14	1.32 ± 0.24	1.20 ± 0.30	1.30 ± 0.17	0.0066
	IM	0.40 ± 0.14	0.84 ± 0.11	0.52 ± 0.10#	0.77 ± 0.14	
LF/HF (%)	OS	1.57 ± 0.93	1.48 ± 0.25	1.05 ± 0.21	1.00 ± 0.16	0.703
	IM	0.55 ± 0.15	0.96 ± 0.16	0.45 ± 0.06	0.95 ± 0.33	
HF + LF	OS	2.16 ± 0.26	2.28 ± 0.34	2.30 ± 0.38	2.60 ± 0.35	0.974
	IM	1.38 ± 0.30	1.77 ± 0.12	1.69 ± 0.13	2.17 ± 0.20	

Tabela 3: Análise temporal e espectral da variabilidade da pressão arterial. Valores são expressos como média ± EPM. OS-1= Operado sham 1 dia; IM-1= Infarto do miocárdio 1 dia; OS-3= Operado sham 3 dias; IM-3= Infarto do miocárdio 3 dias; OS-7= Operado sham 7 dias; IM-7= Infarto do miocárdio 7 dias; OS-21= Operado sham 21 dias; IM-21= Infarto do miocárdio 21 dias. P<0.01: **OS-1 vs IM-1; ##OS-3 vs IM-3; +OS-7 vs IM-7; fIM-7 vs IM-21; hIM-1 vs IM-21. P<0.05: #OS-7 vs IM-7; dIM-1 vs IM-21; eIM-3 vs IM-21; gIM-7 vs IM-21. Todos os dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. p= teste F Interação ANOVA-duas vias.

A Tabela 3 apresenta a VPA nos domínios do tempo e da frequência de animais OS e IM no período pós-operatório. No domínio do tempo, a variância da pressão manteve-se estável ao longo do tempo no grupo IM nas fases aguda e sub-aguda (1 e 3 dias) recuperando-se parcialmente na fase crônica do IM (21 dias) e foi significativamente maior nos grupos controles comparado com os animais infartados com 1, 3 e 7 dias. Quanto às variáveis espectrais, a potência de VLF foi reduzida de forma significativa após ligadura coronariana, permanecendo esse padrão estável ao longo de todo o período estudado, sendo observada recuperação desse componente espectral no grupo IM-21 dias. O componente espectral HF em valor absoluto, representando a influência respiratória na variação pressórica, não foi significativamente afetado pelo IM, assim como a relação LF/HF. No entanto, a potência espectral de LF em valor

absoluto foi alterado significativamente em razão do tempo após ligadura coronariana.

As figuras 12 e 13 mostram o comportamento dos componentes espectrais LF e HF, respectivamente, em unidades normalizadas. O IM reduziu de forma relevante o componente espectral LF normalizado comparado com os grupos controles em todos os períodos estudados após IM. Os animais após 3 e 21 dias de ligadura coronariana apresentaram maior índice espectral LF absoluto comparado com o grupo IM 1 dia. Por outro lado, o IM não alterou significativamente a potência HF.

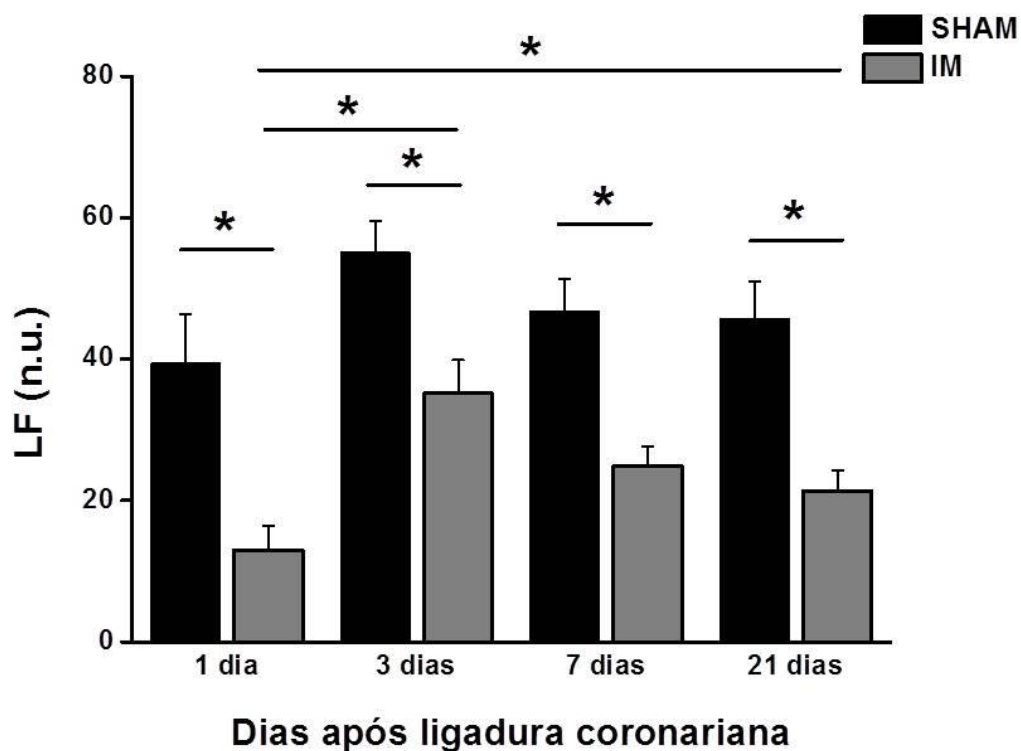


Figura 12: Componente espectral LF (n.u.) da VPA ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais. Resultados são expressos como média \pm EPM. Dados foram comparados por ANOVA- duas vias e múltiplas comparações foram realizadas pelo teste *pos hoc* de Fisher's. *P <0.05; **P<0.01; P=0.001 no teste F de interação, ANOVA-duas vias

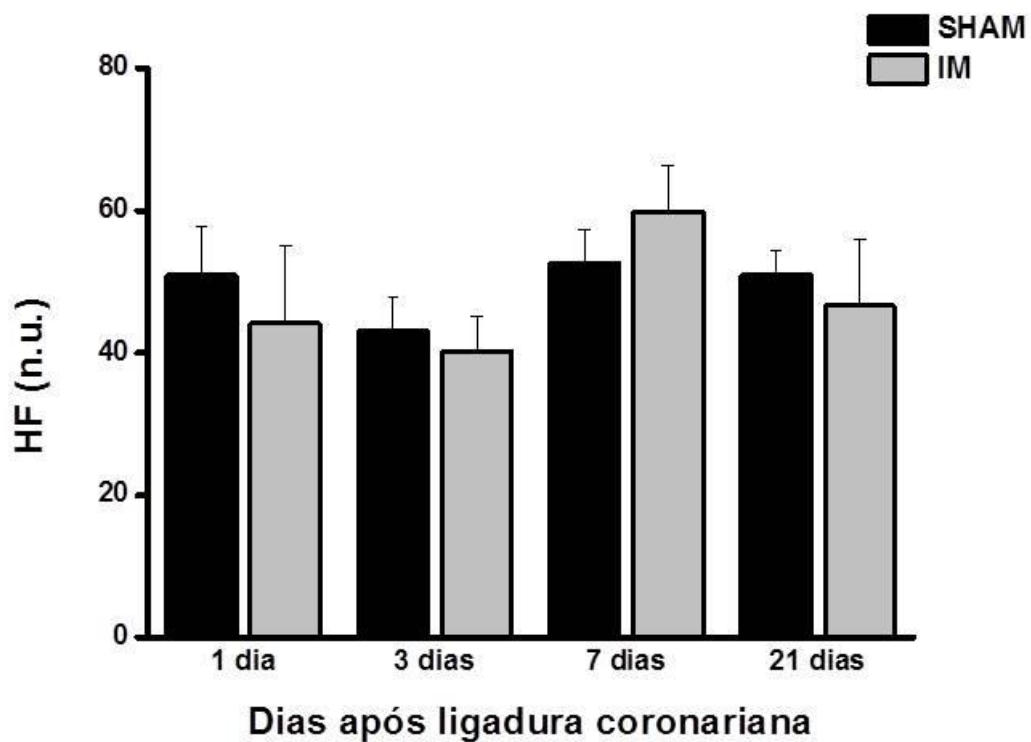


Figura 13: Componente espectral HF (n.u.) da VPA ao longo do tempo nos diferentes grupos experimentais. Resultados são expressos como média \pm EPM. Dados foram comparados por ANOVA- duas vias. $P = 0.6070$, no teste F Interação ANOVA-duas vias.

5 DISCUSSÃO

Nosso estudo mostrou que o IM reduziu globalmente a VFC, afetando ambos componentes espectrais HF e LF. No entanto, a potência HF mostrou uma progressiva recuperação ao longo d 3 semanas no período pós-infarto, enquanto o componente espectral LF manteve os baixos valores durante o período de cicatrização. Nossos dados sugerem que a taquicardia que ocorre na fase aguda do infarto parece ser mais dependente da redução da modulação vagal dos batimentos cardíacos do que secundário ao aumento da modulação simpática. Quanto à VPA, nossos dados mostram que o IM reduz a variabilidade pressórica nas fases aguda e subaguda com recuperação, ainda que parcial, nas fases mais tardias do IM. O componente espectral HF da VPA não foi afetado, já a potência espectral LF encontrou-se reduzida durante todo período de estudo.

Nas primeiras horas após a lesão isquêmica no coração o organismo desenvolve respostas compensatórias que afetam todo o sistema cardiovascular a fim de manter o débito cardíaco e pressão arterial dentro dos valores adequados. Redução do volume sistólico é proporcional à extensão do IM (Pfeffer et al., 1979; Nolan et al., 1992). Além disso, a resposta taquicárdica tende a restaurar o débito cardíaco e assim mantendo a PA em níveis adequados para manter a perfusão dos órgãos vitais (Brum et al., 2006). O cronotropismo positivo observado na fase aguda após oclusão coronariana é considerado um efeito isolado da ativação simpática reflexa (Graham et al., 2002; Floras, 2009; Vaishnav et al., 1994). No entanto, nossos dados sugerem que em ratos a remoção do controle parassimpático dos batimentos cardíacos parece dar uma contribuição significativa para essa resposta adaptativa (Valentini and Parati, 2009).

O rápido aumento da FC após IM e a progressiva atenuação ao longo do período pós-infarto já foi mostrado em estudos anteriores (Jardine et al., 2005; Meyrelles et al., 1996). Recentemente, estudo realizado em nosso grupo de pesquisa, mostrou que essa ativação simpática aparece muito precocemente após a ligadura coronariana (15 a 30 min) não sendo dependente da queda da

pressão arterial uma vez que foi detectada após oclusão da coronária realizada *in vitro* na preparação coração-tronco cerebral isolada e perfundida pela técnica de Langendorff, onde a pressão era mantida constante (Passamani et al., 2014). No presente estudo, no entanto, indicações dessa ativação simpática não foram detectados através da análise espectral obtida 24 horas após a ligadura. É possível, portanto, que a hiperatividade simpática precoce para o coração não seja mantida por mais do que algumas horas. Não se pode descartar, entretanto, que essa ativação simpática não possa ser detectada na análise espectral uma vez que os componentes simpático e vagal encontram-se, ambos, subjacentes à banda LF. Com base em nossos dados, portanto, a taquicardia encontrada um dia após a ligação coronária parece ser dependente da diminuição da modulação parassimpática.

Estudos comprovam que a redução do papel protetor da modulação vagal cardíaca propicia o aumento da vulnerabilidade de desenvolver arritmias, principalmente na fase aguda da doença onde a atividade simpática estaria mais exacerbada. A estimulação do nervo vagal suprimiu o desenvolvimento de arritmias em ratos após IM. A tendência à recuperação vagal e o concomitante decaimento de episódios arrítmicos ao longo do tempo infere o fato de que grande parte da atividade simpática aumentada no coração seria devida a retirada vagal (Olshansky et al., 2008; Zheng et al. 2005).

A origem dos mecanismos responsáveis pela redução da VFC no IM ainda está em discussão (Task Force, 1996; Bigger et al., 1991; Kardos et al., 1996). Estudos em humanos infartados têm mostrado que a redução da VFC é transitória, porém permanece inferior comparado com indivíduos saudáveis (Flapan et al., 1993; Bigger et al., 1991). O estudo do curso temporal da VFC no IM é mais viável de ser realizado a partir de um modelo experimental animal, pois em humanos podemos ter embutidas nos resultados diversas variáveis que acabam interferindo num resultado que infira sobre uma resposta fisiológica fidedigna, como os fatores de risco (doenças e estilo de vida) que levaram ao indivíduo desenvolver o IM ou a utilização de fármacos para o tratamento dos sintomas pós-infarto. No trabalho realizado por Lee et al. (2013) foi avaliada a variação autonômica em ratos após ligadura coronariana a partir

de 2 a 8 semanas após IM ligadura coronariana utilizando registro de eletrocardiograma por telemetria. Os autores não encontraram qualquer alteração espectral de potência ao longo do período de observação. Em nosso estudo também mostramos que nessa fase a recuperação do balanço já estaria quase que completa. Teerlink e Clozel (1993) acompanharam as alterações da VFC e VPA por telemetria em ratos infartados ao longo de 2, 4 e 8 semanas. Os autores verificaram que a PAM e FC não variaram significativamente com o tempo e a VPA e VFC foram reduzidas nos animais infartados comparado com o grupo controle, porém com redução similar dos parâmetros entre as semanas estudadas. Ratos estudados 2 e 4 semanas após ligadura coronariana não apresentaram diferença nos índices espectrais de ambas as variabilidades (FC e PAS) entre as semanas estudadas e comparado com os animais controles (Tobaldini et al., 2009). Observamos nos estudos citados anteriormente que a partir da segunda semana pós IM as variáveis espectrais das variabilidades da PA e FC não foram diferentes ao longo do curso da doença. Nós mostramos no presente trabalho que as alterações na modulação autonômica ocorrem precocemente após o IM por oclusão coronária e que o equilíbrio normal está quase que totalmente restaurado duas semanas após o IM. Portanto, nosso estudo esclarece a ausência de alterações de balanceamento autonômica observada pelos autores anteriormente citados. .

Nos estudos realizados em humanos podemos encontrar resultados que corroboram com os nossos achados. Casolo et al. (1992), observaram que pacientes na fase aguda do IM apresentaram redução da VFC e da atividade parassimpática comparado com os indivíduos controles. Após 2 meses de evolução, a modulação vagal foi significativamente recuperada. Modulação vagal pode aumentar em indivíduos infartados já a partir do décimo dia após o insulto isquêmico. No estudo de Kuch et al. (2004), a potência de LF (tanto em termos absolutos como em unidades normalizadas) foi reduzida em humanos 5-8 dias após o IM, fato que foi associado com um balanço simpático reduzido e, portanto, não é exclusivamente atribuído à atividade simpática cardíaca. Dados de Kardos et al. (1996) também corroboram com os nossos achados, visto na redução dos valores espectrais (LF e HF) da VFC em pacientes infartados de 3 a 5 dias comparado com os indivíduos controles. Progressivo

aumento da atividade parassimpática cardíaca foi visto em indivíduos com IM anterior após 36 horas, 7, 42 e 140 dias (Flapan et al., 1993).

Por outro lado, ao contrário do nosso estudo, Lombardi et al. (1996) mostraram que em pacientes avaliados após primeiras horas de IM há uma predominância do componente espectral LF e redução da potência HF, respostas estas que segundo os autores inferem sobre o aumento da atividade simpática e a redução vagal às células sinusais. É provável que o aumento do precoce do componente simpático seja secundário à ativação simpática central detectada em condições *in vitro* (Passamani et al., 2013). Além disso, esse padrão autonômico foi mantido ao longo da primeira semana de IM.

A modulação parassimpática no coração, representada pela potência do componente HF da VFC, foi reduzida na fase aguda e sub-aguda do IM. Na fase aguda do IM temos uma desregulação e redução da sensibilidade barorreflexa (reflexo simpatoinibitório) pela possível supressão da atividade parassimpática para o nodo sinusal (Jones et al., 2008; Triposkiadis et al., 2009; Kishi, 2012; Floras, 2009). Meyrelles et al. (1996) observaram supressão do controle barorreflexo da FC em ratos conscientes após 1 dia de IM, os quais apresentaram hipotensão e taquicardia, de modo que, 30 dias de IM houve recuperação barorreflexa nos animais, com bradicardia e permanência da hipotensão por disfunção ventricular. Redução da sensibilidade barorreflexa e da VFC foi observada em ratos com 3 (Kruger et al. 1997; Kruger et al., 2000) e 28 dias após ligadura coronariana e recuperada ao longo de 8 semanas (Kruger et al. 1997). Assim como nos trabalhos de Kruger et al citados acima, outros estudos (Januario, 2009; Henze et al., 2008; Deck et al., 1992) mostram uma resposta de bradicardia reduzida e taquicárdica preservada em ratos infartados resultados que nos revelam uma sensibilidade barorreflexa reduzida por retirada parassimpática, já que a atividade reflexa simpática apresentou-se intacta.

Recentes trabalhos têm criticado o fato de o componente espectral LF representar a influência do tonus simpático no coração. A potência de LF representa a modulação barorreflexa no nodo sinusal em resposta a alterações da PA. Assim, potência LF representa ambas as influências, simpática e

parassimpática, na modulação da FC (Heathers, 2014; Goldstein et al., 2011; Rahman et al., 2012). Ratos com desnervação sinoaórtica e infartados com redução da SBR apresentaram redução do componente LF comparado com os animais controles (Mostarda et al., 2010; Januario, 2009; Henze et al., 2008). Moak et al. (2007) mostraram que a potência LF é reduzida em humanos com prejuízo do sistema barorreflexo. Assim, a redução da sensibilidade barorreflexa nas primeiras fases do IM, por retirada da modulação vagal, poderia explicar o reduzido componente espectral LF encontrado no presente estudo.

A investigação da sensibilidade do barorreflexo é complexa pois, pelas técnicas tradicionais, deve ser feito de modo invasivo com injeções de drogas que alteram agudamente a pressão arterial. Essa técnica, entretanto, levaria a alterações em outros reflexos cardiovasculares. Assim, nós optamos nesse estudo não utilizar esse método, pois nosso objetivo foi analisar a influência autonômica na atividade cardíaca em condições mais fisiológicas possíveis. No entanto, como foi discutido anteriormente, a análise espectral da VFC poderia inferir, mesmo que subjetivamente, o papel do sistema barorreflexo nessa desordem autonômica.

Redução da resposta vagal ao coração poderia ser um resultado tanto de alterações nos impulsos originados de aferências no coração, como também de um reflexo parassimpático prejudicado para o coração pelas fibras eferentes vagais, ou ainda redução da liberação de Ach nas terminações sinápticas. (Módolo et al., 1995; Bigger et al., 1988). Prévios estudos mostram que infartos de parede anterior do VE produzem taquicardia e redução dos intervalos RR, já os infartos localizados na parede inferior do VE produz bradicardia pela predominância de fibras aferentes parassimpáticas. Portanto, os receptores e aferências vagais no coração se tornam menos excitáveis em infartos de parede anterior (McAreavy et al., 1989; Lombardi et al., 1996; Sánchez, et al., 1998; Montano et al., 2009).

Após secção do gânglio estrelado, a atividade tônica e o reflexo vagal (induzido por aumento de PA administrando fenilefrina) aumentaram. Uma hipótese para a atenuação da modulação vagal cardíaca no IM seria o aumento

da via aferente simpática devido a ativação anormal de mecanoreceptores cardíacos. Assim, a potencia HF poderia estar reduzida pela supressão dos impulsos eferentes das fibras vagais (Cerati et al., 1991; Bigger et al., 1991). A VFC e sensibilidade barorreflexa são consideradas como marcadores da modulação vagal. Porém, a VFC expressa o tônus vagal em repouso, já o barorreflexo caracteriza a atividade reflexa parassimpática (Farrell et al., 1991). Então, observamos pelos resultados desse trabalho e confirmado por outros autores que no IM, principalmente na fase precoce da doença, há prejuízo de ambos os tônus e reflexo vagal

Podemos observar em nosso trabalho um padrão espectral inconstante nos animais após 3 dias de IM. Esse achado poderia ser explicado pelo fato de que a partir do terceiro dia após oclusão coronariana se inicia o processo de remodelamento cardíaco, onde diversas alterações ocorrem, como a ativação de cascatas de citocinas desencadeando o processo de formação cicatricial. Portanto, essa variação de dados encontrada nos animais infartados de 3 dias comparado com as outras fases do IM, é resultado de uma fase transitória do IM.

Redução parassimpática no IM pode está correlacionada com prejuízo da função ventricular esquerda e vulnerabilidade para arritmias ventriculares em pacientes com insuficiência cardíaca crônica por doença isquêmica do coração (Nolan et al., 1992). Na fase aguda do IM nós observamos no nosso trabalho maior retirada do índice vagal, e essa é a fase com mais desenvolvimento de arritmias e mortes súbitas.

No estudo de Mostarda et al. (2014), ratos com desnervação sinoaórtica que sofreram oclusão coronariana apresentaram prejuízo adicional no remodelamento cardíaco, FC intrínseca e tônus vagal do que os animais infartados com preservação barorreflexa. Os autores explicam que essa perda maior da modulação vagal ocorre pelo fato de que o sistema parassimpático tem quantitativamente uma maior representação no sistema barorreflexo. Além disso, o componente vagal é o mais susceptível a sofrer danos nas doenças cardiovasculares.

Observamos no presente trabalho que a taquicardia ao longo do tempo no IM reduziu concomitante com a recuperação parcial do componente espectral HF do intervalo de pulso, ou seja, aumento da modulação vagal. A resposta do nodo sinusal ao estímulo eferente vagal é rápida (<1 segundo; simpático > 5 segundos - Nunan et al., 2010) durando apenas cerca de um ou dois batimentos do ciclo cardíaco, de tal modo que após cessação do efeito vagal a FC retorna rapidamente aos valores basais. Visto na regulação parassimpática batimento-a-batimento, aumento da FC também poderia ser devido a uma atenuação ou bloqueio vagal. Desse modo, variações bruscas de redução ou aumento dos batimentos cardíacos são em grande parte vagalmente mediadas (Hainsworth, 1995). Bloqueio vagal reduz marcadamente a flutuação espectral HF e atenua a potência LF (Shaffer et al., 2014).

Ainda há poucos trabalhos que exploram o cursar das alterações do comportamento das flutuações autonômicas na regulação da PA em humanos infartados e com muito menos frequência em modelos experimentais. Vê-se a importância dessa análise, pois além da utilização da VFC como um método de análise após o IM, a VPA vem pra adicionar o entendimento de tais alterações.

É atribuído que a potência espectral LF da VPA infere predominantemente as alterações do tônus vascular e RPT, que são respostas aos fatores como o sistema renina-angiotensina e termorregulação (Parati et al., 1995). Pacientes com insuficiência cardíaca após doença isquêmica cardíaca apresentaram redução dos componentes espectrais da VPA comparado com os indivíduos controles em estado de repouso e em condições de esforço físico (exercício físico) o componente LF reduziu e na fase de recuperação aumentou, ao contrário do encontrado no grupo saudável. Segundo os autores, esses achados indicam um prejuízo nas adaptações de curto prazo da homeostase cardiovascular por alterações hemodinâmicas do IM e o período de recuperação do sistema circulatório nos indivíduos infartados é mais letárgico do que nos sujeitos saudáveis. Além disso, esse comportamento do componente LF da VPA encontrado nessas situações de aumento da atividade simpática, atribui a essa potencia espectral das flutuações da PA além da regulação tônica simpática uma forte contribuição

das substâncias vasoativas, como o óxido nítrico, sobre o controle circulatório. Pacientes insuficientes cardíacos apresentam redução de substâncias como o NO, as quais deixam os vasos mais rígidos e assim, estes respondem de forma mais lenta à modulação neural (Radaeli et al., 1999). Essa hipótese poderia explicar a permanência do baixo componente espectral LF em todo período estudado da doença.

Kardos et al. (2009) observaram em pacientes na fase aguda do IM (5 a 8 dias) a redução todos os componentes espectrais da VPA comparado com indivíduos saudáveis. Como explicação para esse resultado eles propõem que seja pela má adaptação do volume sistólico do coração infartado. Teerlink e Clozel (1993) atribuem a depressão das flutuações LF da PA a uma fração de ejeção deprimida no IM. Redução do débito cardíaco na fase precoce do IM acarreta um prejuízo no ajuste batimento a batimento do volume sistólico por comprometimento da complacência ventricular. Além disso, essa alteração do trabalho cardíaco repercute na redução nos níveis da PA e assim no decaimento da RPT. Tais alterações hemodinâmicas poderiam explicar o baixo componente LF encontrado no nosso trabalho. A redução da VPA permaneceu nos animais na fase crônica do IM o que poderia ser devido a disfunção diastólica, a qual podemos correlacionar com a hipertrofia do VD encontrada nos grupos IM de 21 dias.

Redução do componente espectral LF da VPA e da variância pressórica também foram encontradas nos ratos infartados no trabalho de Januario (2009), a que o autor atribui esse achado à baixa sensibilidade barorreflexa observada nesses animais, e tal alteração também estaria associada a depressão da potência LF da VFC. A redução da sensibilidade barorreflexa na fase aguda do IM, o que inferimos nesse trabalho ser o responsável pela redução da VFC, pode repercutir na redução do componente LF da VPA.

Potência espectral LF foi notadamente aumentada na hipertensão arterial e inclinação corporal em humanos e animais, ambas as condições que propiciam elevação da atividade simpática, tais situações ocasionaram um aumento da VPA detectada pela variância da PA aumentada e foram acompanhadas de marcada redução do componente espectral HF (Pagani et

al., 1986; Pagani et al., 1985; Mancia et al., 1983). Aumento do SNS também está presente no IM, porém em nosso trabalho ao contrário desses estudos anteriormente citados que apresentam elevação simpática, nós encontramos o inverso, o IM reduziu a PA batimento-abatimento, visto no decaimento da variância e componente espectral LF. Essa diferença poderia ser explicada pelo fato de que a fisiopatologia da IM acarreta diversas mudanças na funcionalidade do coração, além de outras alterações, observadas em outras doenças ou condições de elevação da atividade simpática.

6 CONCLUSÃO

Observamos redução global de HRV afetando os componentes espectrais HF e LF na fase aguda do infarto. Além disso, O IM também afetou a VPA, visto na redução da variância e do componente LF em todo período estudado. O componente HF da VFC, o qual significa a modulação parassimpática dos batimentos cardíacos mostra uma progressiva recuperação ao longo de três semanas após o evento isquêmico agudo. A redução do drive parassimpático para o coração diminui o limiar para fibrilação e aumenta a probabilidade de arritmias cardíacas na fase aguda do infarto (Bigger et al., 1988), o principal mecanismo de morte súbita nestas condições. A redução da atividade vagal cardíaca, pode estar fortemente relacionado a depressão da sensibilidade barorreflexa. Portanto, o desenvolvimento de ferramentas terapêuticas para aumentar a modulação vagal de batimentos cardíacos pode contribuir para reduzir a ocorrência de arritmias ventriculares e morte súbita na fase aguda de eventos isquêmicos coronários.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acharya UR, Joseph KP, Kannathal N, Lim CM, Suri JS. Heart rate variability: a review. **Med Bio Eng Comput** (2006) 44:1031–1051

Appel ML, Berger RD, Saul P, Smith JM, Cohen. Beat to Beat Variability in Cardiovascular Variables: Noise or Music? **JACC** Vol. 14, No. 5 November I. 1989: 113W8

Ashton N. Neurological and humoral control of blood pressure. **Anaesth Intensive Care**. 8:6, 2007, Elsevier

Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC et al. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 249:H867-H875, 1985

Aubert AE and Verheyden B. Neurocardiology: A Bridge Between the Brain and the Heart. **Biofeedback**. Volume 36, Issue 1, pp. 15–17

Bai Y, Siu KL, Ashraf S, Faes L, Nollo G, Chon KH. Nonlinear coupling is absent in acute myocardial patients but not healthy subjects. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. 295: H578-H586, 2008

Baldo MP, Davel APC, Nicoletti-Carvalho JE, Bordin S et al. Granulocyte Colony-stimulating Factor Reduces Mortality by Suppressing Ventricular Arrhythmias in Acute Phase of Myocardial Infarction in Rats. **J Cardiovasc Pharmacol**. Volume 52, Number 4, October 2008

Berne RB, Levy MN. Tratado De Fisiologia Humana. 6 Ed. Rj. Elsevier, 2006.

Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**. Vol 415, 2012.

Bigger JT, Kleiger RE, Fleiss JL, Rointzky LM, Steinman RC, Miller JP: Components of heart rate variability measured during healing of acute myocardial infarction. **Am J Cardiol** 61(4): 208-215, 1988.

Bigger JT, La Rovere MT, Steinman RC, Fleiss JK et al. Comparison of Baroreflex Sensitivity and Heart Period Variability After Myocardial Infarction. **JACC** Vol. 14. No. 6, 1989:1511-8

Bigger JT, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC, Schneider WJ. Time course of recovery of heart period variability after myocardial infarction. **JACC** Vol . Is. No. 7 December 1991:1643-9

Billman GE, Huikuri HV, Sacha J, Trimmel K. An introduction to heart rate variability: methodological considerations and clinical applications. **Front Physiol.** Cardiac Electrophysiology. Vol 6, article 55, 2015

Brum PC, Rolim NP, Bacurau AV, Medeiros A. Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors. **An Acad Bras Cienc** 2006; 78: 485-503.

Buccelletti F, Gilardi E, Scaini E, Galiuto L, Persiani R, Biondi A, et al. Heart rate variability and myocardial infarction: systematic literature review and meta-analysis. **Eur Rev Med Pharmacol Sci** 2009;13:299–307

Caetano J and Alves JD. Heart rate and cardiovascular protection. **Eur J Intern Med.** 26 (2015) 217–222

Carnevali L e Sgoifo A. Vagal modulation of resting heart rate in rats: the role of stress, psychosocial factors, and physical exercise. **Front Physiol.** Clinical and Translational Physiology. March 2014, Volume 5, Article 118.

Casolo GC, Stroder P, Signorini C, Callzolari F, Zucchini M, Balli E, Sulla A, Lazzerini S. Heart rate variability during the acute phase of myocardial infarction. **Circ.** 1992;85:2073-2079

Cerati D and Schwartz PJ. Single cardiac vagal fiber activity, acute myocardial ischemia, and risk for sudden death. **Circ Res.** 1991;69:1389-1401

Chang Q, Liu R, Shen Z. Effects of slow breathing rate on blood pressure and heart rate variabilities. **Int J Cardiol** 169 (2013) e6–e8

Dantas EM, Pimentel EB, Andreão RV, Cichoni BS et al. Carvedilol recovers normal blood pressure variability in rats with myocardial infarction. **Auton Neurosci.** v. 177, p. 231-236, 2013

Dantas EM, Sant'Anna ML, Andreão RV, Goncalves CP, Morra EA, Baldo, MP, Rodrigues SL, Mill JG. Spectral analysis of heart rate variability with the autoregressive method: what model order to choose? **Comput. Biol. Med.** 2012. 42 (2), 164–170

DeBoer RW, Karemaker JM, Strackee J. Hemodynamic fluctuations and baroreflex sensitivity in humans: a beat-to-beat model. **Am J Physiol.** 1987;253:H1680-H1689.

Deck CC, Raya TE, Gaballa MA, Goldman S. Baroreflex control of heart rate in rats with heart failure after myocardial infarction: effects of captopril. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 263, p. 1424-31, 1992.

Dias da Silva VJ, Miranda R, Oliveira L, Rodrigues Alves CH, Van Gils GH, Porta A, Montano N. Heart rate and arterial pressure variability and baroreflex sensitivity in ovariectomized spontaneously hypertensive rats. **Life Sci.** 2009 May 22;84(21-22):719-24.

DiFrancesco D. Pacemaker mechanisms in cardiac tissue. **Annu. Rev. Physiol.** 55:455-72

Elghosi J, Julien C. Sympathetic control of short-term heart rate variability and its pharmacological modulation. **Fundam Clin Pharmacol** 21 (2007) 337–347

Farrell TG, Odemuyiwa O, Bashir Y, Cripps TR, Mlik M, Ward DE, Camm AJ. Prognostic value of baroreflex sensitivity testing after acute myocardial infarction. **Br Heart J** 1992; 67:129-37

Farrell TG, Paul V, Cripps TR, Mlik M, Bennett ED, Ward DE, Camm AJ. Baroreflex sensitivity and electrophysiological correlates in patients after acute myocardial infarction. **Circ.** Vol 83, No 3 1991

Farrell TG, Odemuyiawa O, Bashir Y, Cripps TR, Malik M, Ward DE, Camm AJ. Prognostic value of baroreflex sensitivity testing after acute myocardial infarction. **Br Heart J** 1992;67:129-37

Flapan AD, Wright RA, Nolan J, Neilson JMM, Ewing DJ. Differing Patterns of Cardiac Parasympathetic Activity and Their Evolution in Selected Patients With a First Myocardial Infarction. **JACC**. Vol 21. 1993. P926-31

Floras JS. Sympathetic Nervous System Activation in Human Heart Failure. Clinical Implications of an Updated Model. **JACC** Vol. 54, No. 5, 2009

Frenneaux MP. Autonomic changes in patients with heart failure and in post-myocardial infarction patients. **Heart** 2004; 90:1248–1255

Grassi G, Bombelli M, Seravalle G, Dell’Oro R, Quarti-Trevano F. Diurnal blood pressure variation and sympathetic activity. **Hypertens Res** (2010) 33, 381–385

Goldstein DS, Benth O, Park M, Sharabi Y. Low-frequency power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes. **Exp Physiol**, 2011, 96.12 pp 1255–1261

Heathers JAJ: Everything Hertz: methodological issues in short-term frequency-domain HRV. **Front Physiol** 5: 1-15, 2014.

Henze M, Hart D, Samarel A, Barakat J, Eckert L, Scrogin K: Persistent alterations in heart rate variability, baroreflex sensitivity, and anxiety-like behaviors during development of heart failure in the rat. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 295: H29-H38, 2008.

Giles TD, Kerut EK., Roffidal LE., Jones R, Given MB, Hutchinson H. The influence of dose of angiotensin I-converting enzyme inhibitor on systolic blood pressure variability in heart failure: a substudy of the Assessment of Treatment with Lisinopril and Survival in heart failure (ATLAS) trial. **Blood Press Monit.**, v. 6, n. 2, p. 81-4, 2001.

Gordan R, Gwathmey JK, Xie LH. Autonomic and endocrine control of cardiovascular function. **World J Cardiol** 2015 April 26; 7(4): 204-214

Gourine A, Gourine AV. Neural Mechanisms of Cardioprotection. **Physiology** 29: 133-140, 2014.

Graham LN, Smith PA, Stoker JB, Mackintosh AF, Mary DASG: Time course of sympathetic neural hyperactivity after uncomplicated acute myocardial infarction. **Circ.** 106:793-797, 2002.

Guyton, AC and Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 11^a ed. Rio de Janeiro, Elsevier Ed., 2006

Hainsworth R. "The control and physiological importance of heart rate," in Heart Rate Variability, eds M.Malik and A.J.Camm (Armonk,NY:Futura Publishing Company,Inc.) 3–19, 1995.

Hata Y, Muratani H, Kimura Y, Fukiyama K, Kawano Y, Ashida T, Yokouchi M, Imai Y, Ozawa T, Fujii J, Omae T. Office blood pressure variability as a predictor of acute myocardial infarction in elderly patients receiving antihypertensive therapy. **J Hum Hypertens** (2002) 16, 141–146

Heathers JAJ. Everything Hertz :methodological issues in short-term frequency-domain HRV. **Front Physiol.** 2014,Volume5, Article177

Hocht C. Blood Pressure Variability: Prognostic Value and Therapeutic Implications. **ISRN Hypertension.** Volume 2013 (2013).

Huikuri HV and Makikallio TH. Heart rate variability in ischemic heart disease. **Auton Neurosci.** 90, 2001. 95–101

Inskip JA, Ramer LM, Ramer MS, Krassioukov AV. Autonomic assessment of animals with spinal cord injury: tools, techniques and translation. **Spinal Cord** (2009) 47, 2–35

Januario EN. Efeitos da estimulacao colinérgica com brometo de piridostigmina sobre a modulacao autonoma cardiovascular em ratos com insuficiencia cardiaca decorrente do infarto do miocardio. Tese (Doutorado em Patologia). Programa de Pos-Graduacao em Patologia. Uberaba, MG: Universidade Federal do triangulo Mineiro; 2009.

Jardine DL, Charles CJ, Ashton RK, Bennett SI, Whitehead M, Framptom CM, Nicholls MG: Increased cardiac sympathetic nerve activity following acute myocardial infarction in a sheep model. **J Physiol** 565.1: 325–333, 2005.

Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C Jr, Reimer KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. **Circ.** 82: 2–12, 1990.

Jones CM, Quinn MS, Minisi, AJ. Reflex control of sympathetic outflow and depressed baroreflex sensitivity following myocardial infarction. **Auton Neurosci.** 141 (2008) 46–53

Karakas M and Koenig W. Sympathetic nervous system. A crucial player modulating residual cardiovascular risk. **Circ Res.** 2013;112:13-16.

Kardos A, Halmai L, Rudas L, Csanády M: Changes in blood pressure and heart period variability in patients with recent acute myocardial infarction. **Clin Sci** 91: 52-55, 1996.

Kirkman E e Sawdon M. Neurological and humoral control of blood pressure. **Anaesth Intensive Care.** 2004 - Elsevier

Kishi T. Heart failure as an autonomic nervous system dysfunction. **Journal of Cardiology** (2012) 59, 117—122

Kobayashi M, Massiello A, Karimov JH, Wagoner DRV, Fukamachi K. Cardiac Autonomic Nerve Stimulation in the Treatment of Heart Failure. **Ann Thorac Surg.** 2013 July; 96(1): 339–345

Koepchen HP. History of studies and concepts of blood pressure waves. In: Miyakawa K, Koepchen HP, Polosa C. Mechanisms of Blood Pressure Waves. Tokyo, Japan/Berlin, FRG: Japan Science Society Press/Springer-Verlag; 1984:3-23.

Kruger C, Kalenka A, Haunstetter A, Schweizer M, Maier C et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in conscious rats with myocardial infarction. **Am J Physiol.** 273 (*Heart Circ. Physiol.* 42): H2240–H2247, 1997

Kruger C, Landerer V, Zugck C, Ehmke H, Kubler W, Hass M. The bradycardic agent zatebradine enhances baroreflex sensitivity and heart rate variability in rats early after myocardial infarction. **Cardiovasc Res** 45 (2000) 900–912

Krzych LJ and Bochenek. Blood pressure variability: epidemiological and clinical issues. **Cardiol J.** 2013, Vol. 20, No. 2, pp. 112–120

Kuch B, Parvanov T, Hense HW, Axmann J, Bolte HD. Short-Period heart rate variability in the general population as compared to patients with acute myocardial infarction from the same source population. **A.N.E.** 2004;9(2):113–120

Lanfranchi PA, Somers VK. Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. **Am J Physiol Regul Integr Comp. Physiol** 283:R815-R826, 2002.

Lee HW, Han TH, Yi KJ, Choi MC, Lee SY, Ryu PD. Time course of diurnal rhythm disturbances in autonomic function of rats with myocardial infarction. **Auton Neurosci** 179: 28–36, 2013.

Lombardi F, Sandrone G, Pernpruner S, Sala R, Garimold M et al. Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. **Am J Cardiol** 1987;60:1239-1245

Lombardi F, Malliani A, Pagani M, Cerutti S. Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. **Cardiovasc Res** 32 (1996) 208-216

Lombardi F and Mortara A. Heart rate variability and cardiac failure. **Heart** 1998;80:213–214

Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circ.** 1991;84:482-492

Malliani A and Montano N. Emerging Excitatory Role of Cardiovascular Sympathetic Afferents in Pathophysiological Conditions. **Hypertension.** 2002; 39:63-68

Malik M, Farrell T, Cripps T, *et al.* Heart rate variability in relation to prognosis after myocardial infarction: selection of optimal processing techniques. **Eur Heart J** 1989;10: 1060–74

Malpas SC. Sympathetic Nervous System Overactivity and Its Role in the Development of Cardiovascular Disease. **Physiol Rev** 90: 513–557, 2010.

Mancia G, Ferrari A, Gregorini L, Parati G, Pomidossi G, Bertinieri G et al. Blood pressure and heart rate variabilities in normotensive and hypertensive human beings. **Circ Res**. Vol. 53, No. 1, July 1983

Mancia G and Grassi G. Mechanisms and Clinical Implications of Blood Pressure Variability. **J Cardiovasc Pharmacol**. 2000;35(7 Suppl 4):S15-9.

Mangoni ME and NARGEOT J. Genesis and Regulation of the Heart Automaticity. **Physiol Rev** 88: 919–982, 2008.

Mann DL and Bristow MR. Mechanisms and Models in Heart Failure. The Biomechanical Model and Beyond. **Circ**. 2005;111:2837-2849.

McAlpine HM, Morton JJ, Leckie B, Rumley A, GILLEN G, DARGIE HJ: Neuroendocrine activation after acute myocardial infarction. **Br Heart J** 60: 117-124, 1988.

McArdle D, Neilson JMM, Ewing DJ, Russell DC. Cardiac parasympathetic activity during the early hours of acute myocardial infarction. **Br Heart J** 1989;62:165-70

McCraty R, Tiller WA, Atkinson M. Head heart entrainment: a preliminary survey. Brain min applied neurophysiology EEG neurofeedback meeting. Key West. P1-9, 1996.

Meyrelles SS, Mill JG, Cabral AM, Vasquez EC: Cardiac baroreflex properties in myocardial infarcted rats. **J Auton Nerv Syst** 60: 163-168, 1996.

Mill JG, Vassallo DV, Leite CM. Time course of changes in heart rate and sympathetic tone after coronary artery ligation in rats. **Braz J Med Biol Res** 1991; 24: 855-858.

Mill JG, Stefanon I, dos Santos L, Baldo, MP. Remodeling in the ischemic heart: the stepwise progression for heart failure. **Braz J Med Biol Res**, September 2011, Volume 44(9) 890-898

Moak JP, Goldstein DS, Eldadah BA, Saleem A, Holmes C, Pechnik S, Sharabi Y. Supine low-frequency power of heart rate variability reflects baroreflex

function, not cardiac sympathetic innervations. **Heart Rhythm**, Vol 4, No 12, December 2007.

Módolo RdaP, Bernardes CF, Vasquez EC, Mill JG. Evaluation of the vagal efferent pathway in rats in the acute and chronic phases of myocardial infarction. **Arq Bras Cardiol** 65(1): 17-22, 1995

Montano N, Porta A, Cogliati C, Costantino G, Tobaldini E, Casali KR, Iellamo F. Heart rate variability explored in the frequency domain: A tool to investigate the link between heart and behavior. **Neurosci Biobehav Rev** 33 (2009) 71–80

Mostarda C, Rodrigues B, Vane M, Moreira ED, Rosa KT, Moraes-Silva IC, Lacchini S, Csarini DE, Angelis KDe, Irigoyen MC: Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodelling and mortality. **Clin Exp Pharmacol Physiol** 37(4):447-452, 2010.

Nolan J, Flapan AD, Capewell S, MacDonald TM, Neilson JMM, Ewing DJ. Decreased cardiac parasympathetic activity in chronic heart failure and its relation to left ventricular function. **Br Heart J** 1992;67:482-5

Nunan D, Sandercock GH, Brodie DA. A quantitative systematic review of normal values for short-term heart rate variability in healthy adults. **Pacing Clin Electrophysiol**. 2010 Nov;33(11):1407-17

Olshansky B, Sabbah HN, Hauptman PJ, Colucci WS. Parasympathetic nervous system and heart failure pathophysiology and potential implications for therapy. **Circ**. 2008;118:863-871

Packer M. The Neurohormonal Hypothesis: A Theory to Explain the Mechanism of Disease Progression in Heart Failure. **JACC**. Vol 20, 1992. P248-56

Pagani M, Furlan R, Dell'Orto S, Pizzinelli P, Baselli G, Cerutti S, Lombardi F, Malliani A: Simultaneous analysis of beat by beat systemic arterial pressure and heart rate variabilities in ambulatory patients. **J Hyperten** 1985;3(suppl 3): S83-S85

Pagani M, Lombardi F, Guzzetti F, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'orto S, Piccaluga E, Turiel M, Baselli G, Cerutti S, Malliani A. Power Spectral Analysis of Heart Rate and Arterial Pressure Variabilities as a Marker of Sympatho-Vagal Interaction in Man and Conscious Dog. **Circ Res.** 1986; 59:178-193

Parati G, Saul P, Rienzo MD, Mancia G. Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in evaluating cardiovascular regulation. **Hypertension.** 1995; 25: 1276-1286

Parati G, Ocho JE, Bilo G. Blood Pressure Variability, Cardiovascular Risk, and Risk for Renal Disease Progression. **Curr Hypertens Rep** (2012) 14:421–431

Parati G, Ochoa JE, Lombardi C, Bilo G. Assessment and management of blood-pressure variability. **Nat. Rev. Cardiol.** 10, 143–155, 2013

Passamani LM, Abdala AP, Moraes DJA, Sampaio KN, Mill JG, Paton JFR. Temporal profile and mechanisms of the prompt sympathoexcitation following coronary ligation in wistar rats. **PLoS One** 9(7): e101886, 2014

Patel H, Ozdemir BA, Patel M, Xiao HB, Poole-Wilson PA, Rosen SD: Impairment of autonomic reactivity is a feature of heart failure whether or not the left ventricular ejection fraction is normal. **Int J Cardiol.** 151: 34-39, 2011.

Peltola MA. Role of editing of R-R intervals in the analysis of heart rate variability. **Front Physiol.** Clinical and Translational Physiology. May 2012, Volume 3, Article148.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E: Myocardial infarct size and ventricular function in rats. **Circ Res** 44: 503-512, 1979.

Rui Curi, Joaquim Procopio – Fisiologia Básica – Guanabara Koogan, 2009. v1 882p.

Radaelli A, Perlangeli S, Cerutti MC, Mircoli L, Mori I, Boselli L et al. Altered blood pressure variability in patients with congestive heart failure. **J Hypertens.** 1999, 17:1905±1910

Rahman F, Pechnik S, Gross D, Sewell L, Goldstein DS. LF power reflects baroreflex function, not cardiac sympathetic innervations. **Clin Auton Res.** 2011 June; 21(3): 133–141

Sánchez AG, Alberola AG, Pagán FJJ, Sánchez FJG, Ayuso JLG, Bermúdez EP, Mingorance GV, Chavarri MV. Effect of the location of myocardial infarction on the variability of heart rate. **Rev Esp Cardiol.** 1998 Aug;51(8):642-7.

Santos PE, Barcellos LC, Mill JG, Masuda MO. Ventricular action potential and L-type calcium channel in infarct-induced hypertrophy in rats. **J Cardiovasc Electrophysiol**, v. 6, n. 11, p. 1004-14, 1995.

Saul JP, Berger RD, Albrecht P, Stein SP, Chen MH, Cohen RJ. Transfer function analysis of the circulation: unique insights into cardiovascular regulation. **Am J Physiol.** 1991;261:H1231-H1245

Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. **Front Psychol.** Psychology for Clinical Settings. 2014. Volume 5, Article1040

Stauss HM, Anderson EA, Haynes WG, Kregel JC. Frequency response characteristics of sympathetically mediated vasomotor waves in humans. **Am J Physiol.** 274 (*Heart Circ. Physiol.* 43): H1277–H1283, 1998

Stauss HM, Kregel KC. Frequency response characteristic of sympathetic mediated vasomotor waves in conscious rats. **Am J Physiol** 1996 Oct; 271(4 Pt 2):H1416-H1422

Stee EWV. Autonomic innervations of the heart. **Environ Health Perspect.** Vol. 26, pp. 151-158, 1978

Swenne CA. Baroreflex sensitivity: mechanisms and measurement. **Neth Heart J.** 2013 Feb; 21(2): 58–60.

Task Force. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **Circ.** 1996. 93 (5), 1043–1065.

Teerlink JR and Clozel JP. Hemodynamic variability and circadian rhythm in rats with heart failure: role of locomotor activity. **Am J Physiol.** 264 (Heart Circ. Physiol. 33): H2111-H2118, 1993.

Tobaldini E, Porta A, Wei SG, Zhang ZH, Francis J, Casali KR, Weiss RM, Felder RB, Montano N. Symbolic analysis detects alterations of cardiac autonomic modulation in congestive heart failure rats. **Auton Neurosci** 150 (2009) 21–26

Triposkiadis F, Karayannis G, Giamouzis G, Skoularigis J, Louridas G, Butler J. Sympathetic nervous system in heart failure. **JACC** Vol. 54, No. 19, 2009

Vaishnav S, Stevenson R, Marchant B, Lagi K, Ranjadayala K, Timmis AD. Relation between heart rate variability early after acute myocardial infarction and long-term mortality. **Am J Cardiol** 73 (9): 653-657, 1994.

Valentini M and Parati G: Variables influencing heart rate. **Cardiovas Dis** 52: 11-19, 2009.

Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RK, Carvalho TD, Godoy MF. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc** 2009; 24(2): 205-217

World Health Organization. The global burden of disease 2004 update (Geneva). 2008.

World Health Organization. Global atlas on cardiovascular diseases prevention and control. 2011

World Health Organization. Global Health Observatory (GHO) data. Mortality and global health estimates. WHO, 2014

World Health Organization. Brazil: WHO statistical profile. Country statistics and global health estimates by WHO and UN partners. WHO, 2015

Zhang R, Behbehani K, Crandall CG, Zuckerman JH, Levine BD. Dynamic regulation of heart rate during acute hypotension: new insight into baroreflex function. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 280: H407–H419, 2001

Zheng C, Li M, Inagaki M, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M. Vagal stimulation markedly suppresses arrhythmias in conscious rats with chronic heart failure after myocardial infarction. Engineering in medicine and biology 27th annual conference, 2005.

Zipes DP: Influence of myocardial ischemia and infarction on autonomic innervation of heart. **Circu.** 82 (4): 1095-1105, 1990.